Über die Wirkung von Parachloranilin und 2-Methoxyäthanol auf die Augenlinse von Ratten

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Peter Kirchhoff
aus Köln

Bonn 1980

Über die Wirkung von Parachloranilin und 2-Methoxyäthanol auf die Augenlinse von Ratten

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Peter Kirchhoff
aus Köln

Bonn 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Professor Dr. Hans-Reinhard Koch

2. Gutachter: Prof. Dr. Hermann Rink

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Klinischen Institut für experimentelle Ophthalmologie
der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. E. Weigelin)

Abteilung Biochemie des Auges
(Leiter: Prof. Dr. O. Hockwin)

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick b. Bonn

In Dankbarkeit

meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546507_0039

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Problemstellung	7
2	Zur Wirkung von Parachloranilin auf die Linse	9
2.1	Einführung	9
2.1.1	Über den Einfluß von Umweltchemikalien auf die Linse	9
2.1.2	Parachloranilin	10
2.1.3	Lösungsmittel	17
2.2	Material und Methoden	18
2.2.1	Versuchstiere und Tierhaltung	18
2.2.2	Versuchsaufbau	19
2.2.3	Augentropfen und Lösungen	20
2.2.4	Voruntersuchung	21
2.2.5	Versuchsdurchführung	22
2.2.6	Statistische Methoden	22
2.3	Ergebnisse	23
2.3.1	Spaltlampenbefunde	23
2.3.2	Körpergewichte	23
2.3.3	Linsenfrischgewichte	28
2.3.4	Weitere Befunde	30
2.4	Diskussion	31
3	Zur Wirkung von 2-Methoxyäthanol auf die Linse	33
3.1	Einführung	33
3.1.1	Über den Einfluß von Lösungsmitteln auf die Linse	33
3.1.2	Tween 80	34
3.1.3	2-Methoxyäthanol	35
3.2	Material und Methoden	46
3.2.1	Versuchstiere und Tierhaltung	46
3.2.2	Versuchsaufbau	47
3.2.3	Herstellung der Lösungen	48
3.2.4	Voruntersuchung	48
3.2.5	Versuchsdurchführung	48
3.2.6	Weitere Untersuchungen	49

Seite

3.3 Ergebnisse 49

3.3.1 Experiment I 49
3.3.2 Experiment III 53
3.3.3 Experiment IV 54
3.3.4 Zusammenfassende Darstellung der Spaltlampenbefunde 56
3.3.5 Körpergewichte 60
3.3.6 Linsenfrischgewichte 66
3.3.7 Ergebnisse aus weiteren Untersuchungen 67

3.4 Diskussion 68

4 Zusammenfassung 75

5 Literaturverzeichnis 76

1 Problemstellung

Die Zahl der Chemikalien, mit denen der Mensch innerhalb des weiten Bereiches seiner Umwelt freiwillig oder unfreiwillig, bewußt oder unbewußt in Kontakt gerät, ist in den letzten Jahren sprunghaft angestiegen. Im Zuge der Intensivierung des Umweltbewußtseins sind Wirkungen solcher Stoffe auch am Auge überprüft worden, und einzelne Untersucher konnten feststellen, daß es Umweltchemikalien gibt, die in der Lage sind, eine schädliche Wirkung auf das Auge hervorzurufen.

Am Klinischen Institut für experimentelle Ophthalmologie der Universität Bonn ist man seit 10 Jahren bemüht, die Wirkungen von Umweltchemikalien, insbesondere die von Pestiziden, auf das Auge zu überprüfen. "Es ist sicherlich richtig, wenn durch systematische Untersuchungen eine Risikoabschätzung für bestimmte Substanzgruppen erleichter wird, ohne daß man die Vielzahl der in Frage kommenden Substanzen einzeln testen muß" (HOCKWIN & KOCH, 1976).

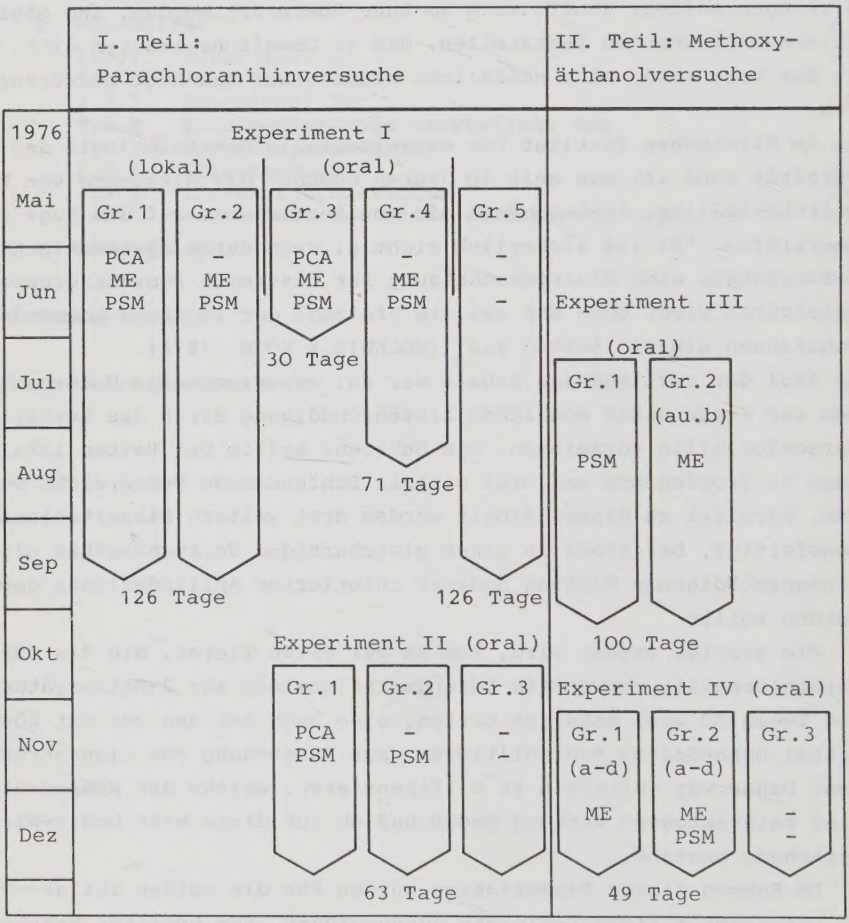
Ziel der vorliegenden Arbeit war es, experimentelle Untersuchungen zur Frage einer möglichen Linsenschädigung durch das Herbizid Parachloranilin vorzulegen. Die Substanz sollte bei Ratten lokal am Auge in Tropfenform und oral mittels Schlundsonde verabreicht werden. Parallel zu dieser Arbeit wurden drei weitere Dissertationen angefertigt, bei denen in einem gleichartigen Versuchsaufbau eine linsenschädigende Wirkung anderer chlorierter Anilinderivate geprüft werden sollte.

Wie gezeigt werden wird, kam es bei allen Tieren, die das für Parachloranilin verwendete Lösungmittelgemisch aus 2-Methoxyäthanol und Tween 80 oral erhalten hatten, also auch bei den nur mit Lösungsmittel behandelten Kontrolltieren, zur Entstehung von Linsentrübungen. Daher war weiterhin zu differenzieren, welche der Komponenten eine kataraktogene Wirkung besaß und ob für diese eine Dosis-Wirkung-Beziehung bestand.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden für die beiden Teilabschnitte insgesamt 4 Tierexperimente durchgeführt. Zum besseren Verständnis des Versuchsaufbaus bei der Lektüre der folgenden Arbeit ist auf Abbildung 1 eine Übersicht über Dauer, Gruppenzusammensetzung und Behandlung dargestellt. Dabei wurden die einzelnen Experimente mit

römischen, die Versuchsgruppen mit arabischen Ziffern numeriert.

Abb. 1: Übersicht über die 4 im Rahmen dieser Doktorarbeit durchgeführten Tierexperimente



PCA = Parachloranilin
ME = 2-Methoxyäthanol
PSM = Polyäthylenglycolsorbitanmonooleat (Tween 80)

2 Zur Wirkung von Parachloranilin auf die Linse

2.1 Einführung

2.1.1 Über den Einfluß von Umweltchemikalien auf die Linse

Es ist bekannt, daß Umweltchemikalien Linsentrübungen (Katarakte) hervorrufen können. Erstmals wurde hierüber vor 40 Jahren berichtet (BERLINER, 1939): Zwei Frauen hatten die Dämpfe von Paradichlorbenzol, einem auch als Mottenvertilgungsmittel und Deodorant eingesetzten Insektizid, über ein Jahr lang eingeatmet; Monate später war es zu diskreten Linsentrübungen gekommen. Andere Herbizide und Fungizide, wie 2,6-Dichlor-4-Nitroanilin (BERNSTEIN, 1970) und Amizol, auch bekannt unter dem Namen Amitrol oder 3-Amino-1H-1,2,4-triazol (BHUYAN et al. 1973) erwiesen sich im Tierexperiment als kataraktogen. Medikamente, insbesondere Cholinesterasehemmer, wie zum Beispiel Echothiophatjodid - eine sowohl als Pestizid als auch als Antiglaukommittel verwendete Substanz - können Linsentrübungen hervorrufen (PIETSCH et al., 1972; AXELSSON & HOLMBERG, 1966).

Seit dem Auftreten dieser Veränderungen ist man bemüht, die Schadensmechanismen aufzuklären. Hierbei wurde den chlorierten Kohlenwasserstoffen, die als Schädlingsbekämpfungsmittel im Pflanzenschutzbereich weltweit Verwendung finden (z.B. Aldrin, Dieldrin, Monolinuron, Buturon) besondere Aufmerksamkeit gewidmet.

Bei in-vitro-Versuchen mit chlorierten Anilinen und Phenolen, unter denen sich auch Parachloranilin befand, wurde festgestellt, daß diese Stoffe in unterschiedlicher Menge und Geschwindigkeit die Linsenkapsel permeieren, und es konnte gezeigt werden, daß die Durchtrittsrate der jeweiligen Substanz umso geringer ist, je mehr Chloratome am aromatischen Ring substituiert sind (ISMAIL et al., (1976).

Während der Untersuchungen von ISMAIL stellte sich heraus, daß Eiweißreste, die der isolierten Linsenkapsel anhafteten, durch einige der getesteten Substanzen (2,4,5-Trichlorphenol und 3,4-Dichlorphenol) trübe und offenbar ausgefällt wurden. Während weiterer Ver-

suche mit Linsenhomogenatlösungen ließ sich zeigen, daß es sich tatsächlich um eine Präzipitation handelte, woran das α-Kristallin in jedem Fall beteiligt war. Außerdem kam es zu einer signifikanten Abnahme des Gehalts an energiereichen Phosphaten und Metaboliten der Glycolyse (KORTE et al., 1976; HOCKWIN et al., im Druck) sowie zu Aktivitätsveränderungen von Linsenenzymen wie sie bereits früher beschrieben worden waren (HOCKWIN, 1972).

Alle genannten Beobachtungen und Ergebnisse waren der Anlaß für die vorliegende in-vivo-Langzeituntersuchung mit Parachloranilin, um die chronische Linsentoxizität der Substanz zu überprüfen. Bereits vorher stand fest, daß sie die Hornhaut penetriert und ins Kammerwasser gelangt (ISMAIL et al., 1977). Außerdem wurde davon ausgegangen, daß sie möglicherweise in ähnlicher Weise wie bestimmte Arzneimittel in die Linse eindringen kann (SALMINEN et al., 1977). Somit waren die Voraussetzungen für die Untersuchung erfüllt.

2.1.2 Parachloranilin (PCA)

Synonyme Bezeichnungen sind auch: p-Chloranilin, 4-Chloranilin, Chlorphenylamin und 1-amino-4-chlorbenzen.

Beschreibung

Rhombische oder prismatische, farblose Kristalle, die sich an der Luft verfärben, und einen charakteristischen, leicht süßlichen Geruch haben.

Summenformel: C_6H_6NCl

Strukturformel:

Physikalische und chemische Eigenschaften

Molekulargewicht : 127,57

Spezifisches Gewicht : 1,427 g/ml bei 4° C

Siedegrenzen : 230 - 232° C
Schmelzpnkt : 70,7° C
Brechungszahl n_D^{100} : 1,5512

Löslichkeitsverhalten: Löslich in Alkoholen (Methanol und Aethanol) Aether, Aceton und unter Erhitzen in Wasser.

Synthese

a) Katalytische Niederdruckhydrierung von 4-Chlornitrobenzol in flüssiger Phase mit Edelmetall- bzw. Edelmetallsulfitkatalysatoren. Zur Vermeidung von Dehalogenierung wird der Zusatz von heterocyclischen Aminen (Morpholin, Piperazin) empfohlen.
b) Durch direktes Einwirken von Chlor auf Acetanilid und spätere Verseifung.

Verwendung

Zwischenprodukt bei der Herstellung von Herbiziden, Insektiziden, Isocyanaten, Farbstoffen und Arzneimitteln.
(ULLMANN, 1974; BEILSTEIN, 1972; HAMBLIN, 1963; RÖMPP, 1966)

Stoffwechsel und Ausscheidung

1. Bei Boden-Mikroorganismen:

Als Zwischenprodukt von Herbiziden übt Parachloranilin (PCA) bestimmte Wirkungen auf Bakterien und Pilze in landwirtschaftlich genutzten Bodenflächen aus und wird umgekehrt auch von diesen Organismen aufgenommen und umgewandelt. Die Zahl der bekannten und in der Literatur angegebenen Wechselwirkungen zwischen PCA und solchen Mikroorganismen würde den Rahmen der vorliegenden Arbeit bei weitem übersteigen. Daher sollen in diesem Zusammenhang einige Beispiele für Reaktionsweisen von PCA genügen (Tab.1).

2. Bei Tieren:

PCA zog die Aufmerksamkeit der medizinischen Wissenschaft auf sich, als tierexperimentell erkannt wurde, daß es aus 4-Chloracetanilid entstehen kann (KIESE, 1963), welches seinerseits eine Methämoglobinämie erzeugen kann (DOLL & HACKENTHAL, 1963) und in Phenacetinpräparaten gefunden wurde (HALD, 1950). Trotz dieser Versuche weiß man noch wenig über den Stoffwechsel von PCA, speziell beim

Säugetier. Hauptstätte für die Biotransformation ist wahrscheinlich die Leber. So kann es in den Lebermikrosomen von Kaninchen unter Verlust des Halogens zu 4-Hydroxyanilin umgewandelt (DALY et al., 1968) oder N-hydroxyliert werden (UEHLEKE et al., 1971).

Tab. 1: PCA-Stoffwechsel bei Mikroorganismen

Autor	PCA-Wirkung und -schicksal
THOMPSON & CORKE (1969)	Hemmung der Nitrifizierung (Umwandlung von NH_4-Stickstoff zu NO_3-Stickstoff) im Boden und toxischer Einfluß auf die Atmung des Bodenorganismus Nitrosomonas
BORDELEAU & BARTHA (1972)	Umwandlung durch Enzyme des Bodenpilzes Geotrichum candidum zu 4,4'-Dichlorazubenzen und 4-Chlor-4'-(4-chloranilino)-Azobenzen
KAUFMANN et al. (1973)	Oxidation durch den Pilz fusarium oxysporum zu p-Chlornitrosobenzen und p-Chlorphenylhydroxylamin
RUSSEL & BOLLAG (1977)	Umwandlung durch eine Streptomyces-Art (Actinomyces) in 4-Chlorformylanilin und 4-chloracetanilid
MINARD et al. (1977)	Umwandlung durch eine Paracoccusart zu 1,3-bis-(p-chlorphenyl)-triazen und 4-Chloracetanilid

Wesentlich umfangreicher sind die Kenntnisse über die Ausscheidung von Metaboliten, die nach Applikation von PCA bei Tieren im Urin erscheinen. So wurde PCA bei Kaninchen als 2-Hydroxyderivat, Aethersulfatderivat, N-Hydroxyderivat, 4-Chlorglycolanilid und 4-Chloroxanilsäure ausgeschieden. Tier- und Applikationsart sowie Dauer der PCA-Gabe waren hierbei sehr unterschiedlich. Eine Übersicht zeigt Tabelle 2.

Toxikologie

1. Wirkungen von PCA bei Tieren:

Letale Dosis (LD_{50}):

Bei Katzen nach subkutaner Appl. 0.125 g/kg, Tod nach 60 h.

Autor	Tierart	Art der Verabreichung	Dosierung (mg/kg tgl.) Appl.-Dauer	Metabolit	Anteil des ausgeschiedenen Metaboliten (%)
ELSON et al. (1948)	Kaninchen	oral	-	2-Hydroxy-derivat	-
ELSON et al. (1958)	Ratten	intraperit.	78 einige Tage	Aethersulfat-derivat	-
MAYZUZUMY et al. (1960)	Kaninchen	subcutan	-	N-Glukuronid	-
JAGOW et al. (1966)	Hunde	intravenös	39 einmal	N-Hydroxy-derivat	0,04
	Kaninchen	intravenös	78 einmal	N-Hydroxy-derivat	0,4
KIESE & ENGELHARD (1968)	Schweine	-	-	N-Hydroxy-derivat	3
KIESE & LENK (1971)	Kaninchen und Schweine	intraperit.	ca. 7 50 Tage	4-Chlor-glycolanilid	3-20
				4-Chlor-oxanilsäure	< 1

-: keine Angaben

Tab. 2: Ausscheidung von Parachloranilinmetaboliten

Bei Ratten, Meerschw. u. Kaninchen	intrap. oraler Appl.	0.42 g/kg,	Tod nach 36 h.
	perkut.Appl.	3.2 g/kg,	

Sektionsbefunde:

Leber- und Nierenschwellung, gelbe Flecke auf der Leberoberfläche.

Histologische Befunde:

Leber- und Nierenschäden in Form von Nekrosen und Degenerationen der zentroazinären Zellen bzw. der Nierenkanälchenepithelien.

Wirkung auf die Haut:

Es wurden keine Reizerscheinungen beobachtet. In einem Versuch, in dem bei Ratten Fell und Epidermis entfernt worden waren und tropfenweise PCA (gelöst in Aceton) auf die Resthaut appliziert wurde, zeigte sich, daß die Substanz völlig resorbiert wurde.

Wirkung auf das Auge:

Geringe Hyperämie der Bindehäute und Chemosis, keine Ulceration eine Stunde nach lokaler Anwendung von 20 - 50 mg bei Kaninchen. Weiter führende Literatur zu diesen Abschnitten findet sich bei SZIZA & PODHRAGYAI (1957) und CHRISTENSEN & LUGINBYHL (1976).

Cancerogenität:

Monatelange Fütterungsversuche sowie intraperitoneale Applikation ergaben keine Hinweise auf die Entstehung von Neoplasmen (ELSON et al., 1958).

Blutbildveränderungen:

Die deutlichste und bekannteste Wirkung von PCA ist die Bildung von Methämoglobin (MetHb) und Sulfhämoglobin sowie eine Hämolyse. Beobachtungen, daß aus Chlorhexidin, einem weit verbreiteten Antiseptikum, nach längerem Stehen in einem warmen Medium (Tropenhitze, Heißluftsterilisation) allmählich PCA entstehen kann - wenn auch in einer für den Menschen wohl unschädlichen Konzentration (2000 ppm) -, waren der Anlaß für weitere Untersuchungen an Ratten und Hunden. Nach Gabe von 50 mg/kg über drei Monate zeigten sich signifikante Blutbildveränderungen in Form von Erythrozyten- und Hämoglobinabnahme, Zunahme von Reticulocyten und Heinz'schen Innenkörpern und Auftreten von MetHb. Histologisch ergab sich eine deutliche Knochenmarkshyperplasie als Zeichen der Hämatopoeseaktivierung und eine Hämosiderinvermehrung infolge

Hämolyse. Die Veränderungen traten bei Hunden früher und in stärkerem Maße auf, als bei Ratten.
Klinisches Zeichen der Blutbildschäden war die Zyanose. Sie entstand ab einer Einzeldosierung von 9 mg PCA oral bei einem durchschnittlichen Rattengewicht von 220 g. Nach Applikation dieser Menge - PCA wird im Magen-Darmtrakt völlig resorbiert - liegen ca. 15 % des Rattenhämoglobins von 2 g, also 300 mg als MetHb vor. Hierdurch wird die starke hämatotoxische Potenz von PCA deutlich, denn es mußten nur 0,45 % der Gesamthämoglobinmenge als PCA zugeführt werden, um eine Zyanose zu erzeugen. Unterhalb der kritischen Dosierung wurde allerdings auch ein leichter Hämoglobinanstieg beobachtet, den man als ein Anzeichen für das Vorhandensein kompensatorischer Mechanismus im Erythrozyten interpretierte.
Um bessere Aufschlüsse über die Verhaltensweise von Menschenblut zu erhalten, wurden auch Versuche mit Affen durchgeführt, nach denen die MetHb-Bildung nur ein Sechstel derjenigen bei Hunden betrug. Da in-vitro-Vergleiche zwischen Affen- und Menschenblut ähnliche Ergebnisse lieferten, wurde davon ausgegangen, daß es auch in vivo keine krassen Unterschiede bezüglich der PCA-Wirkung bzw. der Resistenz des Organismus gegenüber der Substanz gibt. Zu erwähnen ist, daß Rattenblut in vitro die geringsten Veränderungen zeigte. Dies spricht für eine Reihenfolge Hund - Affe/Mensch - Ratte in Richtung geringerer Blutempfindlichkeit gegenüber PCA (SCOTT & ECCLESON, 1967).
Innerhalb der monochlorierten Aniline selbst hat PCA wohl den stärksten hämatotoxischen Effekt, wie Vergleiche mit 2- und 3-Chloranilin zeigen konnten. Die Werte für MetHb und SulfHb für die Substanz lagen maximal bei 65 % bzw. 10 % (NOMURA, 1975). Im übrigen wird darauf hingewiesen, daß PCA selbst nicht hämatotoxisch wirkt (WATANABE, 1976), sondern daß sämtliche beobachteten pathologischen Veränderungen (u.a. Leberschwellung und Hämosiderinablagerungen) mit großer Wahrscheinlichkeit sekundär durch die Hämolyse und all ihren Konsequenzen entstanden sind. Es wurden dementsprechend keine Symptome festgestellt, die nicht auf sie hätten zurückgeführt werden können (SCOTT & ECCLESON, 1967).

2. Wirkungen von PCA beim Menschen:

Aufgrund von Tierversuchen schätzt man, daß ca. 3 g PCA die Grenzdosis für den Organismus eines erwachsenen Menschen darstellt, oberhalb derer mit klinisch wahrnehmbaren Veränderungen gerechnet werden muß. Der begrenzende Faktor ist jedoch letztlich nicht das Körpergewicht des Betreffenden, sondern der GesamtHb-Gehalt seines Blutes. Dies könnte z.B. nach Blutverlusten bei einem PCA-vergifteten Patienten Konsequenzen haben.

Eine tägliche Aufnahme von 500 mg bietet noch einen geringen Sicherheitsabstand bei chronischer Aufnahme von PCA; Voraussetzung hierfür ist allerdings ein intaktes Blutsystem, denn bei Hb- oder G6PDH-Mangel liegen die Werte mit hoher Wahrscheinlichkeit tiefer (SCOTT & ECCLESON, 1967).

Bei Applikation auf die intakte Haut wird PCA nur zu einem geringen Teil (weniger als 5 %) aufgenommen, bei abgeschälter Haut oder nach Verbrennungen wird PCA völlig absorbiert, ebenso nach Verabreichung in den Konjunktivalsack bei zerstörter Konjunktiva am Auge (SCOTT, 1967).

Über akute Vergiftungsfälle mit Parachloranilin ist in der Literatur bisher zweimal berichtet worden:

Im ersten Fall handelt es sich um einen 32jährigen Hilfsarbieter, der eine Zerkleinerungsmaschine für PCA bediente, bei der aufgrund eines technischen Defekts große Mengen des Stoffes in Pulverform in die Umgebungsluft entweichen konnten. Klinisch wurden cyanotische Haut und Bewußtseinsveränderungen sowie Dyspnoe beobachtet, der Puls war beschleunigt und der Blutdruck erniedrigt.

Besonders auffällig war eine starke Methämoglobinämie (43 %) und vorübergehende deutliche EKG-Veränderungen. Die Deutung des ursächlichen Zusammenhangs dieser Veränderungen stützt sich auf die Annahme einer vorübergehenden Anoxie, indem einerseits eine beachtliche Menge des kreisenden Hämoglobins von seiner natürlichen Funktion - Sauerstofftransport zu den Herzmuskelzellen - losgelöst war, andererseits durch die Linksverschiebung der Dissoziationskurve des Sauerstoffs im Hämoglobin weniger von diesem zur Verfügung stand. Der Patient konnte schließlich gesund entlassen werden (SCOTTI & TOMASINI, 1966).

Der zweite Fall wurde bei einem 34jährigen Arbeiter einer Farbenfabrik beobachtet, der sich beim Zählen und Kontrollieren von Säken, die PCA in Pulverform enthielten, vergiftet hatte. Er war bereits 15 Tage dieser Tätigkeit nachgegangen, als Symptome wie Schwäche, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Atemnot, Schwindel und retrosternale Schmerzen sowie eine Zyanose auftraten. Diese wurden von einer starken Methämoglobinämie (Maximum bei 70 %) begleitet, die durch i.v.-Injektion von Vitamin C und Methylenblau erfolgreich behandelt werden konnte. Sonstige Schäden, insbesondere an Leber, Nieren oder Magen-Darmtrakt wurden nicht festgestellt. Die Ursache für die Aufnahme von PCA konnte im einzelnen nicht genau rekonstruiert werden, das Material muß jedoch durch die Haut eingedrungen sein, was möglicherweise durch starkes Schwitzen des Mannes begünstigt wurde. Auch Atemluftverunreinigungen und Essen am Arbeitsplatz spielten eventuell eine Rolle.

Es wird betont, daß beim Umgang mit PCA Vorsicht angebracht ist, zumindest sollten hygienische Maßnahmen wie Ess- und Rauchverbot am Arbeitsplatz sowie prophylaktischer Körperschutz in Form von staubdichter Kleidung und Handschuhen beachtet werden (FAIVRE, 1971).

2.1.3 Die Lösungsmittel

Als Lösungsmittel für Parachloranilin sollten laut Rezeptur 2-Methoxyäthanol und Tween 80 verwendet werden (vgl.auch 3). Eine Mischung dieser beiden Stoffe war bereits vor Versuchsbeginn in einem anderen Langzeitversuch zur Testung der chronischen Toxizität von chlorierten Phenolen an den Augen von Albinoratten angewendet worden, hierbei konnten keine Veränderungen mit Krankheitswert festgestellt werden (BÖTTEL, 1980). Somit gab es keine Bedenken gegen den Einsatz der beiden Substanzen.

2-Methoxyäthanol ist ein in der Industrie vielfach verwendetes Lösungsmittel, das sich auch sehr gut zur Lösung von Halogenkohlenwasserstoffen wie Parachloranilin eignet. Außerdem ist es in jedem Verhältnis mit Wasser mischbar. Andere Lösungsmittel, wie Aceton oder Methylzellulose, Polyvinylalkohol oder Wasser sind für diesen Zweck ungeeignet, da Aceton kataraktogen wirken kann und die Lös-

lichkeit der anderen Komponenten für PCA zu gering ist (zwischen 10^{-3} und 10^{-6} M).

Tween 80 (Polyäthylenglycolsorbitanmonooleat) ist ein nichtionischer Emulgator, der in der Industrie häufig zur Lösung galenischer Probleme eingesetzt wird, z.B. bei der Herstellung von Hustensaft oder Augentropfen. Er hat die Eigenschaft, Oberflächenspannungen zu erniedrigen und bewirkt eine bessere Verteilung des z.B. auf die Augenhornhaut aufgebrachten Materials durch Ausbildung einer größeren Austauschfläche. Dadurch können auch bessere Voraussetzungen für eine Penetration von Chemikalien durch die Hornhaut geschaffen werden (BÖHME & HARTKE, 1968).

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Bei der Durchführung aller tierexperimentellen Untersuchungen wurden weibliche Sprague-Dawley-Albinoratten (Süddeutsche Versuchstierfarm/Tuttlingen) verwendet.

Der besondere Vorteil der Ratte als Versuchstier liegt in ihrer einfachen und relativ anspruchslosen Tierhaltung. Wichtig ist außerdem, daß sich bereits nach kurzer Eingewöhnungszeit auch von einem Ungeübten problemlos an der Spaltlampe eine Augenuntersuchung ausführen läßt.

Zu Versuchsbeginn waren die Tiere jeweils ca. 8 Wochen alt und wogen im Mittel 65 g. Sie waren zu zweit oder zu dritt in einem Makralonkäfig untergebracht, der mit Holzspänen ausgelegt war und in einem normal temperierten Raum stand.

Als Futter diente Altromin^{R}-Standardfutter (pelletiert), zu trinken bekamen die Tiere Leitungswasser. Beides stand jederzeit ad libitum zur Verfügung.

Zur Unterscheidung wurden die Schwänze der Tiere mit verschiedenfarbiger, wasserunlöslicher Tusche gefärbt.

2.2.2 Versuchsaufbau

Parachloranilin sollte bei Ratten systemisch (oral) und lokal am Auge appliziert werden. Da als Lösungsvermittler gleichzeitig zwei weitere Substanzen (Tween 80 und 2-Methoxyäthanol) verabreicht wurden, war es notwendig, neben Tieren, die ohne jeglichen Zusatz gefüttert wurden, also ganz unbehandelt blieben, auch solche in den Versuch miteinzubeziehen, die lediglich das Lösungsmittel ohne Testsubstanz erhielten.

Es wurden 5 Gruppen zu je acht Tieren gebildet. Der Versuchsaufbau ergibt sich damit wie folgt (Experiment I):

Gruppe I1	lokal	Parachloranilin	+ Tween 80 + 2-Methoxyäthanol
Gruppe I2	lokal	Kontrolle	Tween 80 + 2-Methoxyäthanol
Gruppe I3	oral	Parachloranilin	+ Tween 80 + 2-Methoxyäthanol
Gruppe I4	oral	Kontrolle	Tween 80 + 2-Methoxyäthanol
Gruppe I5	Leergruppe (unbehandelt)		

Überraschenderweise zeigte sich bei allen Tieren der Gruppen I3 und I4 Linsenveränderungen, die demnach auf eine Wirkung des per os applizierten Lösungsmittelgemisches zurückzuführen waren. Hierüber wird unter Abschnitt 3 ausführlich berichtet werden.

In diesen beiden Gruppen konnte somit über die isolierte Wirkung der eigentlichen Testsubstanz Parachloranilin keine Aussage gemacht werden. Dieser Teil des Versuches wurde daher nach 30 Tagen abgebrochen und lediglich die Gruppen I1, I2 und I5 über 71 Tage weitergeführt.

In einem daraufhin durchgeführten neuen Experiment, bei dem an zwei Tiergruppen lediglich die beiden Lösungsmittelbestandteile verabreicht wurden, wurde festgestellt, daß Methoxyäthanol der für die genannten Veränderungen verantwortliche Bestandteil war. Über dieses Experiment wird im 2. Teil der Arbeit ausführlich berichtet werden (vgl. 3.3). Daher wurde ein zweiter Versuch angesetzt, bei dem zur Prüfung der systemischen Wirkung von PCA auf die Augenlinse auf den Einsatz der kataraktogenen Lösungsmittelkomponente verzichtet wurde.

Das erneute Experiment umfaßte drei Gruppen mit ebenfalls je acht Tieren (Experiment II):

Gruppe II1	oral	Parachloranilin + Tween 80	
Gruppe II2	oral	Kontrolle	Tween 80
Gruppe II3	Leergruppe (unbehandelt)		

2.2.3 Augentropfen und Lösungen

Die chronische LD_{50} von PCA war nicht bekannt. Da die Angabe für 3,4-Dichloranilin laut Auskunft des Instituts für ökologische Chemie bei 20 mg lag (KLEIN, pers.Mitt.), wurde auch für Parachloranilin ein Wert in dieser Größenordnung angenommen. Für die orale Applikation wurde daher eine Dosierung von 15 mg/kg Körpergewicht gewählt. Zur lokalen Verabreichung am Auge sollte eine 2 %ige Lösung dienen, da davon ausgegangen wurde, daß trotz der Verwendung des oberflächenaktiven Tween 80 die Penetration und Resorption des Stoffes durch die Hornhaut im Vergleich zur enteralen relativ gering ist.

Im ersten Experiment wurde sowohl für die lokale als auch für die orale Anwendung ein Lösungsmittelgemisch aus 2-Methoxyäthanol, Tween 80 und destilliertem Wasser im Volumenmischungsverhältnis 8 : 7 : 15 verwendet:

Parachloranilin	15-60 mg (in Abhängigkeit vom Tiergewicht)
2-Methoxyäthanol	0,8 g
Tween 80	0,7 g
Aqua dest.	ad 3,0 ml

Die Applikation per os geschah zweimal täglich mittels einer schlanken 1-ml-Kunststoffspritze, auf die eine leicht gebogene Metallschlundsonde mit abgerundeter und verdickter Spitze aufgesetzt war. Bei der Sondierung wurden die Tiere in die Hand genommen, die Sonde vorsichtig unter leichtem Drehen durch den Schlund bis in den Magen eingeführt und 0,1 ml Lösung verabfolgt. Die Tiere sträubten sich zunächst gegen diese Art der Fütterung, nach einer gewissen Gewöhnungszeit blieben sie jedoch ruhig. Die Konzentration der Lösung

wurde dem Tiergewicht so angepaßt, daß eine Dosierung von 15 mg/kg Körpergewicht (s.o.) erreicht wurde. Das entsprach unter Berücksichtigung der Gewichtszunahme während des Versuchs einer 0,5 bis 2 %-igen Lösung.

Die Augentropfen wurden in 10-ml-Tropffläschchen gefüllt. Dreimal täglich wurde den Tieren der Gruppen I1 und I2 jeweils ein Tropfen der Testlösung beziehungsweise des Lösungsmittelgemisches beidseits auf die Augenoberfläche getropft. Jedes Tier erhielt somit täglich 6 Tropfen einer 2 %igen Lösung. Bei einem angenommenen Tropfenvolumen von 16,7 µl würde dies ca. 2 mg entsprechen (30 mg/kg Körpergewicht). Allerdings ist zu berücksichtigen, daß ein Teil des Tropfens beim ersten Lidschlag abfließt bzw. weggewischt wird, und somit auch nur ein Teil der verbleibenden Substanz tatsächlich resorbiert wird.

Für das zweite Experiment, bei dem Parachloranilin ohne das als kataraktogen erkannte 2-Methoxyäthanol angewendet werden sollte, wurde folgende Galenik gewählt:

Parachloranilin	15 mg
Tween 80	0,7 ml
Aqua dest.	ad 3,0 ml

Gegenüber den Versuchsgruppen I3 und I4 wurde also in den Gruppen II1 und II2 der Methoxyäthanolanteil durch ein entsprechendes Volumen destilliertes Wasser ersetzt. Nach leichtem Erhitzen des Tween 80-Wasser-Gemisches ließ sich das Parachloranilin auch ohne den Zusatz von 2-Methoxyäthanol in eine applizierbare Form bringen.

2.2.4 Voruntersuchung

Die Voruntersuchung bestand in einer Augeninspektion der Versuchstiere mit dem Spaltlampenmikroskop (Fa. Zeiss, Oberkochen) und der Feststellung der Tiergewichte vor Versuchsbeginn. Tiere mit einem pathologischen Befund wurden vom Versuch ausgeschlossen.

2.2.5 Versuchsdurchführung

Zur morphologischen Untersuchung der Linsenbefunde wurden sämtliche Versuchstiere in regelmäßigen Abständen an der Photospaltlampe untersucht. Hierzu wurden die Tiere beidhändig in den Strahlengang des Spaltlampenmikroskops gehalten, eine Sedierung oder Narkose war nicht notwendig. Ein Seitentubus erlaubte die monokuläre Mitbetrachtung durch einen zweiten Untersucher. Die Befunde wurden in einem Protokollschema zeichnerisch festgehalten. Typische Veränderungen wurden auf Agfa CT 21 photographisch dokumentiert.

Die Wägung der Tiere geschah in ca. 5tägigen Abständen mittels einer Balkenwaage.

Die Tiere wurden zunächst in Äthernarkose dekapitiert. Sofort danach wurden beide Augen enukleiert. Zur Linsenpräparation wurde der Bulbus durch einen Schnitt am hinteren Pol eröffnet, die Schnittlefzen wurden mit zwei Pinzetten gefaßt und die Bulbushüllen auseinandergezogen. Die Frischgewichte der darauf entnommenen Linsen wurden mit einer Analysenwaage (Fa. Mettler, Ablesegenauigkeit 0,1 mg) bestimmt, bis zur weiteren Untersuchung wurden sie bei -24 Grad Celsius eingefroren. Anschließend wurden jeweils zwei Tieren der Gruppen II1 und II2, welche den schlechtesten Allgemeinbefund zeigten, die Milz entnommen und zwecks lichtmikroskopischer Untersuchung an das Zentralinstitut für Versuchstiere (Hannover) geschickt. Makroskopische Veränderungen (Verhalten, äußeres Auge, intraoraler Befund, Fell) wurden ebenfalls festgehalten.

2.2.6 Statistische Methoden

Soweit die Untersuchungen als Ergebnisse "harte Daten" lieferten, wurden sie einer statistischen Auswertung unterzogen. Dabei wurden für die Stichproben arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichungen (s) berechnet ("beschreibende Statistik").

Zum Vergleich zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen wurden einfache Varianzanalysen (Methode der nichtgewichteten Mittel) berechnet. Individuelle Vergleiche zwischen einzelnen Gruppen wurden anhand orthogonaler Kontraste durchgeführt.

Die Berechnungen wurden mit einem Mikrokomputer (CBM 3032, Commodore, USA) vorgenommen und über einen Nadeldrucker (CBM 3022, Commodore, USA) ausgegeben. Die Programme wurden in Basic erstellt.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Spaltlampenbefunde

Je acht männliche Albinoratten waren 124 bzw. 63 Tage lang einer oralen oder lokalen Parachloranilinbehandlung unterworfen worden. Entsprechende Kontrollgruppen wurden nicht oder nur mit dem Lösungsmittel behandelt.

Während der Versuchsdauer waren in regelmäßigen Abständen Spaltlampenkontrollen der Linsenbefunde erfolgt. Dabei konnten weder nach systemischer noch nach oraler Applikation von Parachloranilin Linsenveränderungen von pathologischem Wert festgestellt werden. Die Spaltlampenuntersuchung blieb bis zum letzten Versuchstag ohne Befund, Unterschiede zu Kontrolltieren bestanden nicht.

Jedoch kam es bei all den Tieren, die das Lösungsmittelgemisch 2-Methoxyäthanol/Tween 80 oral erhalten hatten, bereits nach einer Versuchsdauer von drei Wochen zu Linsentrübungen, deren Ursache, Charakter und Entwicklung im Abschnitt 3 der vorliegenden Arbeit untersucht wird.

2.3.2 Körpergewichte

Bei lokaler Anwendung von PCA (Abb.2) zeigte sich, daß sowohl die PCA-behandelte Gruppe I1, als auch die nur mit dem Lösungsmittel behandelte Gruppe I2 gegenüber der Kontrollgruppe einen etwas verzögerten Gewichtsanstieg erkennen ließen. Dementsprechend läßt die Varianzanalyse, die für drei verschiedene Versuchstermine berechnet wurde, erkennen, daß zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter PCA-Effekt auf das Körpergewicht bestand. Lediglich am letzten Versuchster-

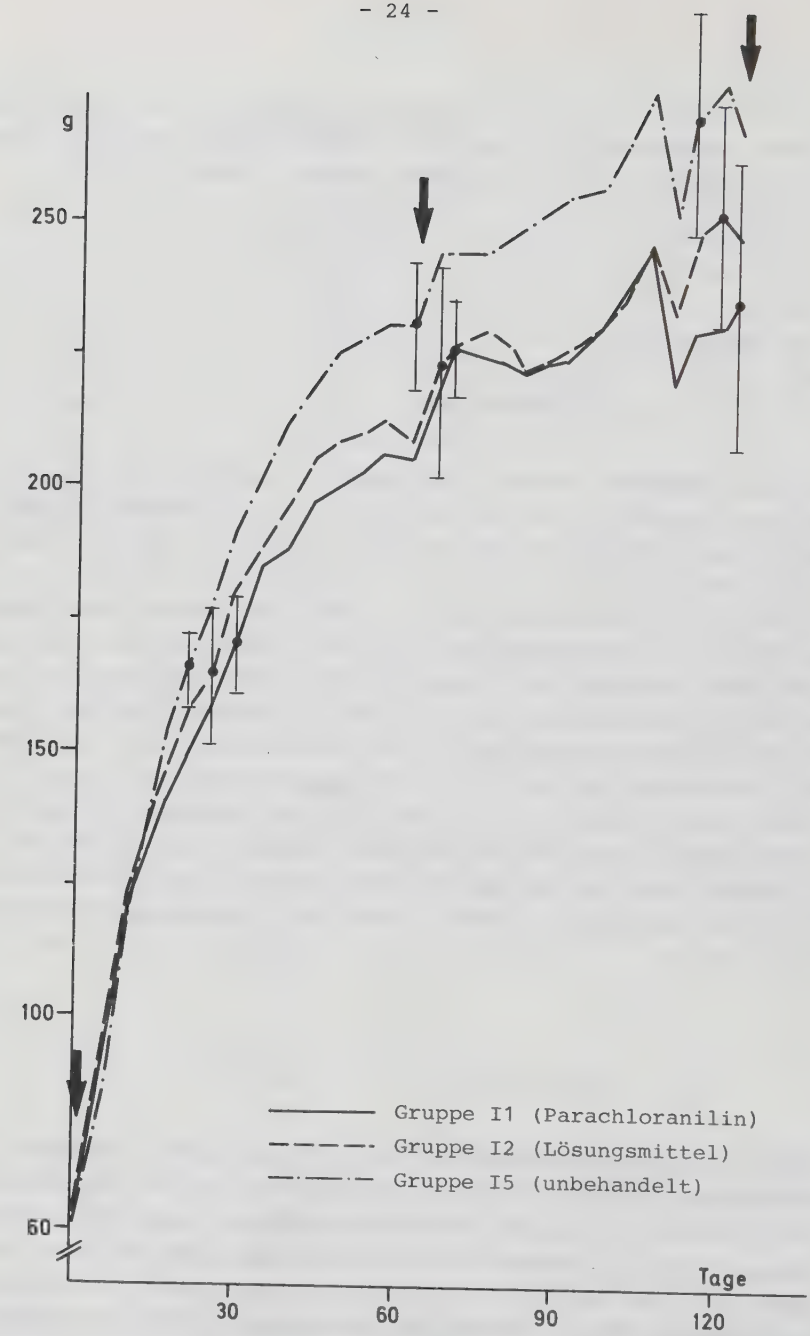


Abb. 2: Verlauf des Körpergewichts (g) in Experiment I (lokale Applikation). Die Pfeile markieren Termine, für die eine Varianzanalyse durchgeführt wurde

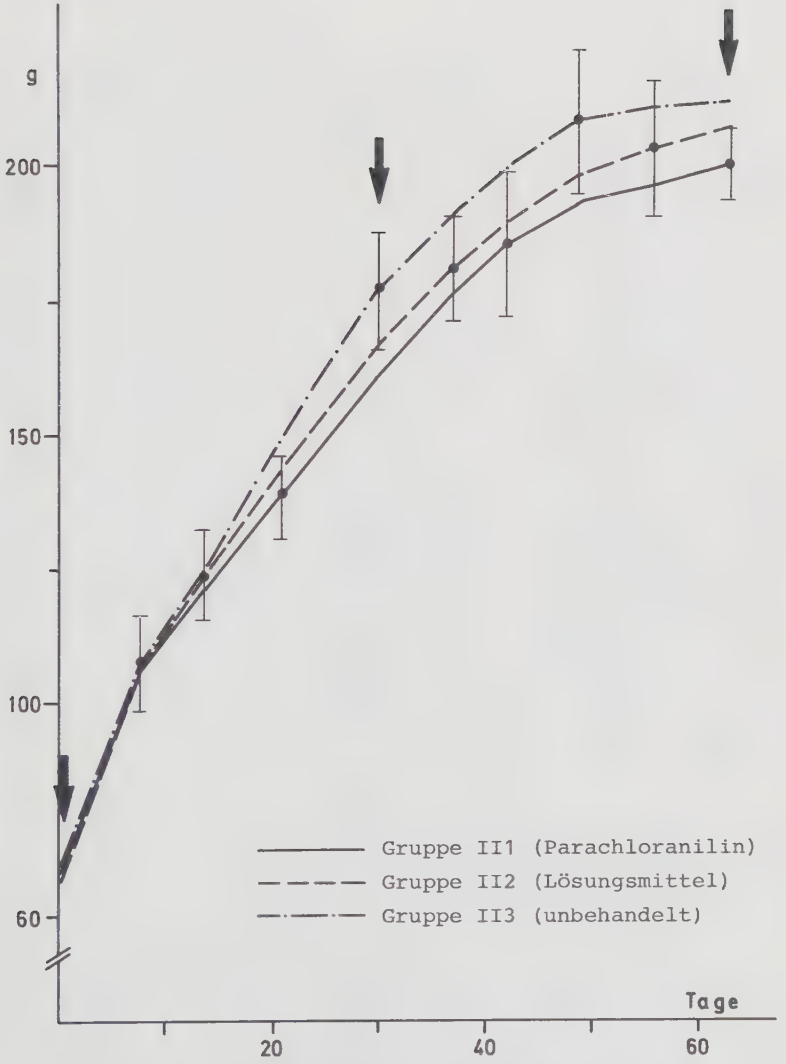


Abb. 3: Verlauf des Körpergewichts (g) in Experiment II (orale Applikation). Die Pfeile markieren Termine, für die eine Varianzanalyse berechnet wurde

Gruppe		Versuchstag														
		0.	3.	6.	10.	13.	17.	21.	26.	30.	35.	40.	45.	49.	54.	58.
I1	$\bar{x}$	62	77	94	119	129	141	149	158	170	185	188	197	200	203	206
	s	7	9	8	9	10	8	9	10	9	10	7	10	11	12	12
I2	$\bar{x}$	66	82	98	123	133	146	157	164	179	188	196	205	208	210	212
	s	7	7	9	13	12	13	13	13	13	14	17	21	21	22	22
I3	$\bar{x}$	60	77	92	109	113	126	133	146	164	-*					
	s	6	7	7	6	7	12	11	7	9	-*					
I4	$\bar{x}$	64	77	86	103	103	112	120	129	139	150	160	168	166	175	174
	s	7	10	8	11	12	14	12	11	14	16	18	22	26	9	11
I5	$\bar{x}$	62	74	87	117	134	151	165	178	190	201	212	220	225	228	230
	s	7	5	7	8	9	10	7	8	10	11	11	15	14	14	15

		63.	68.	71.	77.	81.	84.	88.	92.	98.	103.	108.	112.	116.	121.	124.
I1	$\bar{x}$	205	217	226	224	223	221	223	224	229	237	244	219	229	230	234
	s	13	14	9	15	13	11	11	10	13	15	10	20	26	28	27
I2	$\bar{x}$	208	222	227	229	226	221	223	226	230	235	245	232	242	251	246
	s	21	20	18	14	16	16	15	17	18	17	21	26	20	21	27
I4	$\bar{x}$	169	191	184	-*											
	s	10	6	12	-*											
I5	$\bar{x}$	230	244	244	244	246	248	251	254	256	264	274	251	268	276	266
	s	12	10	10	11	14	16	16	16	12	14	15	15	21	22	20

* Versuch abgebrochen (vgl.2.2.2)

		0.	8.	14.	21.	30.	37.	42.	49.	56.	63.
II1	$\bar{x}$	67	106	122	138	161	177	186	194	197	201
	s	3	5	7	8	9	13	14	16	9	7
II2	$\bar{x}$	65	107	123	143	167	181	190	199	204	208
	s	0	7	9	10	12	10	8	11	13	13
II3	$\bar{x}$	68	106	124	150	177	190	200	208	212	213
	s	3	9	8	10	11	14	17	14	14	15

Tab. 3: Körpergewichte in Experiment I und II in g (Mittelwerte und Standardabweichungen)

min zeigte sich ein unspezifischer Behandlungseffekt, der auf den Unterschied zwischen der unbehandelten Kontrollgruppe I5 und den beiden Augentropfengruppen I1 und I2 zurückgeht (Tab.4).

Tab. 4: Varianzanalyse für Körpergewichte aus Experiment I am 0., 63. und 124. Versuchstag (Versuchsanfang, -mitte und -ende)

Vers.Tag	Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
0.	Zwischen	84,06	2	42,03	0,87	-
	Innerhalb	962,37	20	48,12		
	Gesamt	1046,43	22			
63.	Zwischen	27061,1	2	1353	1,16	-
	K_1 (PCA-E.)	25	1	25	0,2	-
	K_2 (Beh.E.)	2681	1	2681	2,29	-
	Innerhalb	23400,4	20	1170		
	Gesamt	26106,5	22			
124.	Zwischen	3775,8	2	118,79	3,02	-
	K_1 (PCA-E.)	529	1	529	0,85	-
	K_2 (Beh.E.)	3246,8	1	3246,8	5,19	$< 0,05$
	Innerhalb	12519,7	20	626		
	Gesamt	16295,5	22			

Bei oraler Applikation konnte ebenfalls eine substanzspezifische Wirkung von Parachloranilin statistisch nicht nachgewiesen werden (Tab.5), aber auch hier zeigte sich ein signifikanter unspezifischer Behandlungseffekt zu Versuchsanfang ($p < 0,05$) und in der Versuchsmitte ($p < 0,01$).

Diejenigen Tiere, welche das Gemisch aus 2-Methoxyäthanol und Tween 80 oral erhalten hatten (Gruppe I3 und I4), zeigten bis zum Versuchsabbruch einen gegenüber den anderen Gruppen verzögerten Gewichtsanstieg. Wegen der unterschiedlichen Einflüsse der Behandlungskomponenten und der Kürze dieses Versuchs (vgl.Abb.1) wurde auf eine zeichnerische Darstellung und statistische Auswertung verzich-

tet. Im übrigen wird die Frage einer Beeinflussung des Körpergewichts unter 2-Methoxyäthanol in Teil 3 der Arbeit noch einmal ausführlich aufgegriffen.

Tab. 5: Varianzanalyse für Körpergewichte aus Experiment II am 0., 30. und 63. Versuchstag (Versuchsanfang, -mitte und -ende)

Vers.Tag	Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
0.	Zwischen	40,75	2	20,357	3,57	< 0,05
	K_1 (PCA-E.)	18,063	1	18,063	3,17	-
	K_2 (Beh.E.)	22,688	1	22,688	3,98	< 0,05
	Innerhalb	119,793	21	5,704		
	Gesamt	160,543	23			
30.	Zwischen	1123,08	2	561,54	4,87	< 0,05
	K_1 (PCA-E.)	169	1	169	1,46	-
	K_2 (Beh.E.)	954,08	1	954,08	8,27	< 0,01
	Innerhalb	2422,87	21	115,37		
	Gesamt	3545,96	23			
63.	Zwischen	633,33	2	316,67	2,21	-
	K_1 (PCA-E.)	225	1	225	1,57	-
	K_2 (Beh.E.)	408,33	1	408,33	2,84	-
	Innerhalb	3015,62	21	143,6		
	Gesamt	3648,96	23			

2.3.3 Linsenfrischgewichte

Die bei Versuchsabschluß ermittelten Linsenfrischgewichte aus Experiment I und II sind in den Abbildungen 4 bzw. 5 dargestellt. Die etwas höheren mittleren Gewichte in Experiment I ergeben sich aus der längeren Versuchsdauer, da das Alter der Tiere eng mit dem Linsengewicht korreliert. In den Gruppen I3 und I4 waren wegen der fraglichen Einflußnahme von 2-Methoxyäthanol keine Linsen präpariert worden. Über die Wirkung dieser Substanz auf das Linsenge-

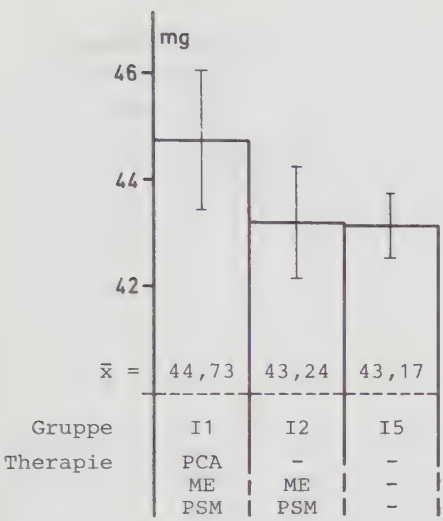


Abb. 4

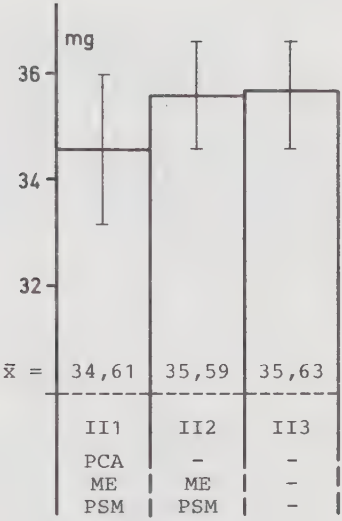


Abb. 5

Abb. 4 und 5: Schematische Darstellung der Linsenfrischgewichte aus Experiment I und II zu Versuchsabschluß (Mittelwerte und Standardabweichungen)

Tab. 6: Varianzanalysen für die Linsengewichte aus Experiment I und II bei Versuchsabschluß

Vers.Tag	Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
Exp.I	Zwischen	10,8701	2	5,435	5,17	-
	K_1 (PCA-E.)	7,7704	1	7,7704	7,39	< 0,01
	K_2 (Beh.E.)	3,0997	1	3,0997	2,95	-
	Innerhalb	18,9318	18	1,0518		
	Gesamt	29,8018	20			
Exp.II	Zwischen	5,3397	2	2,6699	2,02	-
	K_1 (PCA-E.)	3,8416	1	3,8416	2,91	-
	K_2 (Beh.E.)	1,4981	1	1,4981	1,13	-
	Innerhalb	27,7571	21	1,3218		
	Gesamt	33,0968	23			

wicht wird im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit berichtet (vgl. 3.3.6).

Bei der statistischen Auswertung der bei Versuchsabschluß ermittelten Linsengewichte zeigte sich bei lokaler Applikation (Experiment I) ein signifikanter Zusammenhang mit der Parachloranilin-Wirkung ($p < 0,01$), während bei oraler Gabe (Experiment II) keine Signifikanz festgestellt werden konnte. Die Behandlung als solche hatte in keinem der beiden Experimente einen Einfluß auf das Linsenfrischgewicht (Tab.6).

2.3.4 Weitere Befunde

Am Ende der Versuchsreihe mit oraler PCA-Gabe (8.-9.Woche) traten bei vielen Tieren der Gruppe II1 deutliche Anzeichen einer Zyanose auf. Mundschleimhäute und Augenbindehäute schimmerten bei ihnen anämisch-blaß bis bläulich-livide. Bei denselben Tieren kam es gleichzeitig zum Verlust des Stellreflexes, und ein ataktischer, unsicherer Gang machten beim Untersucher den Eindruck von Desorientiertheit und Benommenheit. Gegen Versuchsende lagen die Tiere reglos und apathisch auf dem Boden des Käfigs. Bei der Sektion fand sich als wesentlicher Befund eine erhebliche Vergrößerung der Milzen.

Die histologische Untersuchung der Milzen* ergab für die Kontrolltiere (Gr.II/2) Follikelhyperplasie mit aktiven Keimzentren, und für die mit PCA behandelten Tiere (Gr.II/1) Blutstauung, Hämosiderose und gesteigerte Hämatopoese (Anzeichen gesteigerten Blutabbaues und -neuaufbaues).

Einige der getropften Tiere zeigten in der zweiten Versuchshälfte zirkulären Haarausfall im Bereich beider Augen sowie Anzeichen einer leichten bis mittelschweren Bindehautentzündung. Sonst wirkten diese Tiere klinisch unauffällig.

---

* Die histologischen Untersuchungen wurden freundlicherweise von Herrn Dr. F. Deerberg (Zentralinstitut für Versuchstiere, Hannover) durchgeführt

2.4 Diskussion

Das Ziel des ersten Teils der vorliegenden Arbeit war es, zu überprüfen, ob Parachloranilin eine linsentoxische Wirkung bei Ratten in vivo besitzt.

Es hat sich zeigen lassen, daß Parachloranilin weder nach chronischer lokaler Anwendung am Auge als 2 %ige Tropfenlösung noch nach systemischer oraler Applikation (15mg/kg/die) in der Lage ist, selbständig Linsentrübungen auszulösen.

Die einzigen klinisch auffälligen Erscheinungen bei einigen der getropften Tiere waren ein Haarausfall im Augenbereich und Bindehautentzündungen. Diese Veränderungen traten allerdings auch bei Kontrolltieren auf, die kein Parachloranilin erhalten hatten. Die Ursache für die Erscheinung kann darin liegen, daß die Tiere im Anschluß an die Applikation mit beiden Vorderpfoten heftig über beide Augen wischten, um überschüssiges Material, welches durch Tween 80 relativ stark am Auge und Umgebung klebte, zu entfernen. Ebenso ist denkbar, daß 2-Methoxyäthanol die genannten Schäden hervorgerufen hat, weshalb man in weiteren Versuchen 2-Methoxyäthanol gezielt auf die Hornhaut geben sollte.

Auffällig war eine Erscheinung, die am Ende des Versuchs bei den gefütterten Tieren auftrat: Bei vielen wurden Anzeichen einer deutlichen Zyanose beobachtet. Sie deutet auf eine Blutbildveränderung hin, welche von einigen Autoren als Folge einer starken hämatotoxischen, hämolysierenden Wirkung durch Parachloranilin interpretiert wird (SCOTT & ECCLESON, 1967; NOMURA, 1975). Hierfür spricht auch der schlechte Allgemeinzustand, und besonders der histologische Milzbefund bei einigen der Tiere.

Die während der beiden Experimente beobachteten, behandlungsbedingten Gewichtsunterschiede traten nicht unerwartet auf, da eine Störung der Nahrungsaufnahme und -verwertung durch die täglich mehrmalige Applikation der verschiedenen Substanzen wahrscheinlich ist. Hinzu kommt, daß die Gruppenmittelwerte bereits zu Versuchsbeginn recht unterschiedlich waren.

Der einzige Unterschied, der sich zwischen den behandelten und unbehandelten Tieren erkennen ließ, war eine Vermehrung des Linsenfrischgewichts gegenüber den unbehandelten und Lösungsmittel-behandelten Kontrollgruppen. Dieser Unterschied erwies sich in der Va-

rianzanalyse als signifikant, obwohl er vergleichsweise gering war (vgl.Tab.6). Das Ausmaß dieses Gewichtsunterschiedes betrug 4 %. Da die Linsen morphologisch keine Veränderungen erkennen ließen, ist es schwer, die toxikologische Bedeutung dieses Befundes zu diskutieren.

Es besteht der Verdacht, daß Parachloranilin trotz der negativ ausgefallenen morphologischen Untersuchung womöglich doch ein Einflußvermögen auf die Linse hat, ohne in der verabreichten Dosis kataraktogen zu wirken. Da die Substanz nach Penetration der Hornhaut ins Kammerwasser gelangen kann (ISMAIL et al., 1977), ist es denkbar, daß durch Beeinflussung von energiereichen Phosphaten (z.B. ATP) oder Enzymen in der Linsenfaser (HOCKWIN et al., 1972; KORTE et al., 1976) deren Gleichgewicht zwischen intra- und extrazellulärem Wasserhaushalt gestört wird, wodurch sie insgesamt schwerer erscheint. In Zukunft sollte daher bei tierexperimenteller Anwendung, insbesondere in höherer Dosierung, eine systematische Linsenkontrolle erfolgen.

3 Zur Wirkung von 2-Methoxyäthanol auf die Linse

Wie bereits erwähnt wurde, waren im ersten Experiment Linsentrübungen aufgetreten, die nicht auf eine Wirkung der Prüfsubstanz Parachloranilin zurückzuführen waren. Diese Trübungen waren vielmehr bei allen Tieren gesehen worden, die das Lösungsmittelgemisch aus 2-Methoxyäthanol, Tween 80 und Wasser durch die Schlundsonde erhalten hatten. Es war in einem weiteren Experiment dann nachgewiesen worden, daß die kataraktogene Wirkung des Lösungsmittelgemisches durch seinen Bestandteil 2-Methoxyäthanol hervorgerufen worden war. Dabei hatte sich der Verdacht ergeben, daß die zusätzliche Verabreichung von Tween 80 den Schweregrad der beobachteten Trübung beeinflussen konnte.

Über eine linsenschädigende Wirkung von 2-Methoxyäthanol und/oder Tween 80 ist in der Literatur bisher noch nicht berichtet worden. Die beiden Substanzen sollen im folgenden kurz vorgestellt werden.

3.1 Einführung

3.1.1 Über den Einfluß von Lösungsmitteln auf die Linse

Über gesundheitliche Schäden durch industriell verwendete organische Lösungsmittel, die somit zur großen Zahl der Umweltchemikalien zu zählen sind, ist bereits mehrfach berichtet worden. In der Literatur sind bis jetzt unzählig viele Unfälle mit solchen Stoffen beschrieben worden, sowohl bei ihrer Herstellung als auch bei ihrer alltäglichen Verwendung, z.B. im Haushalt.

Speziell die okulotoxische Potenz einiger dieser Mittel bedarf keiner experimentellen Bestätigung mehr. So können zum Beispiel die technischen Lösungsmittel Trichloräthylen und Schwefelkohlenstoff beim Kaninchenauge signifikante Veränderungen an energiereichen Phosphaten hervorrufen (SAVIČ et al., 1968; SAVIČ & HOCKWIN, 1969). Dimethylsulfoxid (DMSO), ein seit dem vorigen Jahrhundert bekanntes Lösungsmittel, welches in den 60er Jahren als Analgetikum und Anti-

phlogistikum verwendet wurde, kann bei Tieren zu Linsenveränderungen führen (RUBIN & MATTIS, 1966). Auch Aceton und Cyclohexanon haben sich tierexperimentell als kataraktogen erwiesen (RENGSTORFF, 1972).

3.1.2 Tween 80

Tween 80 (Polyäthylenglycolsorbitanmonooleat, Sorbimakrogoleat nach DAB 7) ist ein nicht-ionisches Lösungsmittel mit besonderen Qualitäten. Da das schwere Molekül sowohl lipophile als auch hydrophile Gruppen enthält, eignet sich Tween 80 (im weiteren Verlauf als PSM abgekürzt) ausgezeichnet in Bereichen, in denen polare und unpolare Substanzen in gegenseitige Wechselwirkung treten bzw. sich miteinander verbinden sollen. Dementsprechend wirkt es vorwiegend als emulgierendes, dispergierendes, lösungsvermittelndes und damit oberflächenaktives chemisches Bindeglied. Seine Verwendung reicht von der Lösung wasserunlöslicher Substanzen (z.B. ätherische Öle) über die Grundlage von Salben- und Tropfenpräparaten bis zum Hilfsmittel in der Lebensmittelindustrie (Backwaren, Soßen, Schokolade, Götterspeise, Softeis usw.).

PSM wird in der Leber verstoffwechselt und quantitativ in Urin und Stuhl ausgeschieden. Urinuntersuchungen ergaben bisher keine Hinweise auf eine Metabolisierung in Richtung Oxalsäure oder Oxalurie (KRANTZ, 1948). PSM-hydrolysierende Enzyme sind beim Menschen im Pankreasextrakt (HALL, 1961) und bei Tieren im Fettgewebe nachgewiesen worden (WALLACH et al., 1962).

Über Monate durchgeführte Fütterungsversuche mit PSM konnten weder beim Menschen noch beim Tier Hinweise auf eine pathogene Wirkung erbringen (JONES et al., 1948; KRANTZ, 1948). Beschrieben wurden lediglich laxierende Effekte (OSER & OSER, 1957).

In-vitro-Untersuchungen sowie Augentropfversuche mit PSM bei Tieren verliefen durchweg negativ (HAGIWARA & SUGIWIA, 1953; TREON, 1966; LAMBERT, 1968). Nach Injektion in die vordere Kammer wurden allerdings Hornhautschwellungen und Entzündungsreaktionen beobachtet (KUWABARA & COGAN, 1957; QUIROGA & KLINTWORTH, 1967).

Linsentrübungen durch PSM wurden bisher nicht beschrieben. Im Verlauf der Arbeit war vorübergehend diskutiert worden, ob die in Ex-

periment I beobachteten Linsenveränderungen auf die Wirkung dieser Substanz zurückzuführen seien. Später, in Experiment III, konnte dann nachgewiesen werden, daß nicht Tween 80 die Ursache war, sondern 2-Methoxyäthanol. Wie im folgenden allerdings gezeigt werden wird, besteht die Möglichkeit einer Verstärkung des 2-Methoxyäthanol-Effekts durch gleichzeitige Verabreichung mit Tween 80.

3.1.3 Methoxyäthanol (ME)

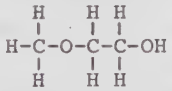
Chemische Bezeichnungen sind: 2-Methoxyäthanol-(1), β-Methoxyäthylalkohol, 1-Hydroxy-2-Methoxyäthan oder Methyl-(2-Hydroxyäthyl) äther.

Die Substanz ist besser bekannt unter den Trivialnamen: Methylcellosolve, Methylglykol, Glykolmonomethyläther oder Äthylenglycolmonomethyläther.

Beschreibung

Farblose, wasserklare Flüssigkeit mit schwachem, mild ätherischem Geruch.

Strukturformel:



Summenformel: $C_3H_8O_2$

Physikalische und chemische Eigenschaften

Molekulargewicht	:	76,094
Spezifisches Gewicht	:	0,963 g/ml bei 25° C 0,946 g/ml bei 20° C
Siedegrenzen	:	123,5-125,5° C bei 1013 mbar
Gefrierpunkt	:	-85,1° C
Brechungszahl n_D^{20}	:	1,4015 - 1,4025
Dampfdruck	:	2,0 mbar bei 0° C 9,3 mbar bei 20° C 9,7 mbar bei 25° C 40 mbar bei 50° C 330 mbar bei 100° C

Gesättigte Luft enthält 1,28 Vol.-% Methyläthanol.

Relative Dichte der gesättigten Luft: 1,021 (Luft=1)
Verdunstungswärme bei 1013 mbar : 519 J/g
Flammpunkt : 38° C
Zündtemperatur : 285° C
1 ppm = 0,00311 mg/l
1 mg/l = 322 ppm

Löslichkeitsverhalten: Mehr oder weniger hygroskopische, mit den meisten organischen Lösungsmitteln sowie mit Wasser beliebig mischbare Flüssigkeit. Mit höheren aliphatischen Kohlenwasserstoffen nur beschränkt mischbar, in Styrol- und Polyvinylmischpolimerisaten sowie Fetten, Ölen und wenig polaren Harzen praktisch unlöslich. Gutes Lösungsmittel für die meisten natürlichen und synthetischen Harze, für Nitro-, Acetyl- und Äthylzellulosen, Chlorkautschuk, Weichmacher u.v.a.

Synthese

a) Wie alle Äthylenglykolmonoäther durch Umsetzen des Alkohols (Äthanol) mit Äthylenoxid in Gegenwart alkalischer oder saurer Katalysatoren in exothermer Reaktion.
b) Durch direkte Alkylierung von Glykol mit einer alkylierenden Substanz, zum Beispiel Dialkylsulfat.

Verwendung

In der Lackmittelindustrie wird 2-Methoxyäthanol als Lösungs-, Verdünnungs- und Veredelungsmittel für Streich- und Einbrennlacke verwendet. Es regelt die Verdunstungszeit und verbessert den Verlauf und den Glanz der Lackschichten. Es dient als Farbstofflösungsmittel für Druckpasten, Tuschen, Tinten, Lederfarbstoffe, natürliche und synthetische Harze und für Holzbeizen. Es wird Flugzeugkraftstoffen zugesetzt, um Eisbildung zu verhindern. Als Zusatz zu Automobilkraftstoffen wirkt es der Vergaservereisung entgegen. Weitere Verwendungsmöglichkeiten sind Destillation von Kohlenwasserstoffen und Alkoholen, Reinigungsmittel, Klebstoffzusatz und vieles andere mehr. Es wird außerdem zu ebenfalls als Lacklösungsmittel verwendeten Aceta-

ten und zu als Weichmacher bekannten Phtalaten weiterverarbeitet.

(ULLMANN, 1960; BEILSTEIN, 1974; HYGIENIC GUIDE SERIES, 1970)

Stoffwechsel und Ausscheidung

Über das Stoffwechselverhalten und die Ausscheidung von 2-Methoxyäthanol (ME) im menschlichen Körper ist bisher wenig bekannt.

WILEY et al. (1938) untersuchten die Ausscheidung von Oxalsäure und deren Salzen im Urin von Hunden und Kaninchen nach ME-Verabreichung. Sie konnten jedoch keine Erhöhung der Oxalsäurekonzentration feststellen. Hieraus folgerten die Autoren, daß es dem Körper wahrscheinlich nicht möglich ist, ME zu hydrolysieren. Auf der anderen Seite hat NITTER-HAUGE (1970) bei 2 menschlichen Vergiftungsfällen mit ME eine Oxalurie beschrieben (s.u.). Der Verdacht, daß ME zu Methylalkohol metabolisiert wird, konnte ebenfalls nicht bestätigt werden, da die Bestimmung der Ameisensäure im Urin negativ ausfiel.

Toxikologie

1. Wirkung von ME bei Tieren:

Eine Reihe von Autoren haben tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkung von ME durchgeführt und hierbei unterschiedliche Applikationsmodelle verwendet.

Orale Applikation:

Versuche über die akute Wirkung von ME nach oraler Verabreichung

Tab. 7: Akute Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei verschiedenen Tieren nach oraler Applikation (nach CARPENTER et al., 1956)

Tier	Geschlecht	Gewicht	ME-Konz.	LD_{50}
Meer-Schweinchen	♂ + ♀	200-300 g	10 %	0,95g/kg
Kaninchen	♂	200-300 g	25 %	0,89g/kg
Ratte	♂	90-120 g	10 %	3,25g/kg
Ratte	♀	90-120 g	10 %	3,40g/kg
Befunde:	Narkoseähnliche Zustände, Lungenödeme, Leber- und Nierenschäden, Hämaturie			

lassen auf eine relativ starke Toxizität der Substanz schließen. Erste LD_{50}-Angaben lagen bei 2,46 g/kg für Ratten und 0,95 g/kg für Kaninchen (SMYTH et al., 1941). Diese Werte konnten später bestätigt werden (Tab.7).
Längere Experimente zur Bestimmung der chronischen Toxizität bei Kaninchen ergaben hauptsächlich hepato- und nephrotoxische Eigenschaften von ME (Tab.8).

Tab. 8: Chronische Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei Kaninchen nach oraler Applikation über 1 Woche (nach LEHMANN & FLURY, 1938)

Dosierung (cm^3/kg/die)	W i r k u n g e n
0,1 (7x)	Nach der 4. Verfütterung im Harn vorübergehend rote Blutkörperchen und Zylinder
0,5 (7x)	Tod nach der 7. Verfütterung; Autopsie ergab Glomerulitis
1,0 (3x)	Am Tag nach der 3. Verfütterung: Mattigkeit, Zittern, Bauchlage, Durchfall. Eiweiß im Harn, ebenfalls rote Blutkörperchen und Zylinder. Am nächsten Tag Tod. Autopsie ergab Glomerulitis
2,0 (2x)	Am Morgen nach der 2. Verfütterung Tod, im Harn fanden sich rote Blutkörperchen, Eiweiß und Zylinder. Autopsie ergab Glomerulitis

Parenterale Applikation:

In einem Rattenexperiment wurden nach intravenöser bzw. intraperitonealer ME-Injektion etwas geringere LD_{50}-Werte als bei oraler Gabe gefunden (Tab.9). Bei Kaninchen betrug die tödliche Dosis nach einmaliger Injektion 2 ml/kg (LEHMANN & FLURY, 1938) und bei Mäusen 3 mg/g (STARREK, 1938).
Die chronischen ME-Wirkungen nach subkutaner Injektion ähneln stark denen bei oraler Verabreichung (Tab.10).
Auch intramuskulär wurde ME bei Tieren injiziert: In einem Experiment mit Hunden und Kaninchen (WILEY et al., 1938), die drei Tage lang täglich 6 bzw. 2 ml ME erhielten, beobachtete man nach der Autopsie hämorrhagische Magen-, Darm- und Lungenveränderun-

Tab. 9: Akute Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei Ratten nach parenteraler Applikation
(nach CARPENTER et al., 1956)

ME-Konzentrat.	Appl.-Art	Geschlecht	Gewicht	LD_{50}
25% in 0,75% NaCl-Lsg.	intraven.	♀	90-120 g	2,7 g/kg
unverdünnt	intraven.	♀	90-120 g	2,2 g/kg
unverdünnt	intraper.	♀	90-120 g	2,46g/kg

Tab. 10: Chronische Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei Kaninchen und Meerschweinchen nach subkutaner Injektion über 1 Woche
(nach LEHMANN & FLURY, 1938)

Kaninchenversuch	
Dosierung (ml/kg/die)	Wirkungen
0,1	Von zwei Tieren hatte eins vorübergehend Eiweiß und rote Blutkörperchen im Harn
0,25	keine
0,5	Nach der 7. Injektion vorübergehend rote Blutkörperchen und Zylinder im Harn
1,0	Nach der 3. Injektion Nahrungsverweigerung, Eiweiß, rote Blutkörperchen und Zylinder im Harn, Tod 1 Tag nach der 7. Injektion. Sektion ergab Glomerulitis

Meerschweinchenversuch	
Dosierung (ml/kg/die)	Wirkungen
0,1	keine
0,25	keine
0,5	Nach der 5 Injektionen Seitenlage, oberflächliche Atmung, nach 6 Tagen Tod
1,0	Nach der 5. Injektion erschwerte Atmung, Streckkrämpfe, Tod

gen, Leber- und Hodenschäden sowie Kalkausgüsse im Urin. Eine Erhöhung der Methanol- sowie der Ameisen- und Oxalsäureausscheidung wurden nicht festgestellt.

Applikation per Inhalation:

Zur Untersuchung der akuten ME-Wirkungen wurden Ratten über mehrere Stunden verschiedenen Dampfkonzentrationen ausgesetzt (Tab. 11). Alle Tiere hatten nach Versuchsende eine Hämoglobinurie, was als Zeichen einer starken Hämolyse interpretiert wurde.

Tab. 11: Akute Wirkung von 2-Methoxyäthanol nach mehrstündiger Inhalation bei Ratten (nach CARPENTER et al., 1956)

Tier-Gewicht	ME-Konzentration	Inhal.-Zeit	Überlebensrate
115-160 g	2000 ppm	8 Std	0 %
120-140 g	2000 ppm	4 Std	80 %
125-150 g	2000 ppm	2 Std	100 %
150-175 g	10000 ppm	4 Std	66 %
120-140 g	8000 ppm	4 Std	33 %
125-160 g	4000 ppm	4 Std	84 %

Ein weiteres, vierstündiges Rattenexperiment ergab, daß bei 1000 ppm gerade noch keine, und bei 2000 ppm schon eine massive Hämolyse bei den meisten Tieren eintrat. Der Grenzwert für Membranschäden bei Erythrozyten wurde daher zwischen diesen beiden Konzentrationen vermutet. In-vitro-Studien zeigten außerdem, daß Rattenblut nach Zugabe von 25 - 75 %igem ME hämolytisch wird (CARPENTER et al., 1956).

Bei Mäusen wurde nach fünfstündiger Inhalation von ME in einer Konzentration von 10 mg/l Luft (3220 ppm) nach 5 Stunden Gehstörungen, nach 6 Stunden Seitenlage und nach 7 Stunden bei höherer Dosis der Tod festgestellt.

Bei Meerschweinchen, Katzen und Kaninchen bewirkte die Einatmung eines gesättigten ME-Luft-Gemisches (ca. 10.000 ppm) nach 1 - 3

Stunden Tränensekretion, Koordinationsstörungen und Nierenschäden. Katzen und Kaninchen erholten sich, mehrere Meerschweinchen starben nach 2 - 14 Tagen an Nierenversagen und Lungenentzündung (STARREK, 1938).

Tab. 12: Chronische Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei verschiedenen Tieren nach Inhalation über 15 Tage (nach LEHMANN & FLURY, 1938)

ME-Konzentration = 2,5 mg/l = 0,08 Vol% = 800 ppm	
Tier	Wirkungen
Maus	15 Tage lang keine Besonderheiten
Meerschweinchen	Bei einem Tier nach 9 Tagen Mattigkeit, angestrengte Atmung, Nahrungsverweigerung, Tod. Bei einem Tier nach 12 Tagen Mattigkeit, oberflächliche Atmung, Nahrungsverweigerung, am 13. Tag Tod
Kaninchen	Bei einem Tier nach 15 Tagen Gewichtsabnahme, bei einem anderen verminderte Freßlust, Eiweiß im Harn, jedoch spätere Erholung. Bei einem 3. Tier nach 4 Tagen Mattigkeit, Schnupfen, Nahrungsverweigerung, oberflächliche Atmung, Tod
ME-Konzentration = 5 mg/l = 0,16 Vol% = 1600 ppm	
Maus	Bei einem Tier nach 10 Tagen oberflächliche Atmung und Seitenlage
Meerschweinchen	Bei einem Tier Tod nach dem 7. Tag, bei einem anderen nach dem 2. Tag Mattigkeit, Nahrungsverweigerung, Tod am 3. Tag. Bei einem dritten Tier nach 4 Tagen Bewegungsunlust, Tod am 5. Tag
Kaninchen	Bei einem Tier nach 10 Tagen Mattigkeit und Durchfall, am 12. Tag Taumeln, Zittern, oberflächliche Atmung, Streckkrämpfe und Tod. Bei einem anderen Tier Tod nach dem 7. Tag
Katze	Bei zwei Tieren nach 5 Tagen Mattigkeit, Nahrungsverweigerung, Bauchlage. Beide Tiere wurden getötet

Eine Autopsie ergab bei einigen Versuchstieren u.a. Lungen- und Nierenschäden.

Die chronische Toxizität von ME-Dämpfen wurde ebenfalls anhand von Inhalationsversuchen getestet (Tab.12), indem die Tiere 8 Stunden täglich die Substanz einatmeten.
Ein anderer Versuch mit Mäusen (Tab.13) ergab als LD_{50} einen Wert von 1480 ppm (4,6 mg/l), der histologische Befund war ähnlich.

Tab. 13: Chronische Wirkung von 2-Methoxyäthanol bei Mäusen nach Inhalation über 3 Wochen (nach WERNER et al., 1943)

ME-Konzentration		Überlebensrate in %				
mg/l	ppm	Stunden		Wochen		
		7	32	1	2	3
21,08	6800	87,5	0			
10,5	3380	93,75	0			
7,03	2260	100	6,25			
6,74	2170	100	6,25			
6,59	2120	100	87,5			
5,19	1670	100	43,75			
4,03	1300	100	91,25	68,75	56,25	50
2,88	930	100	100			

In weiteren, wochenlangen Experimenten mit Konzentrationen von 310 und 750 ppm bei Ratten und Hunden wurden insbesondere Blutbildveränderungen in Form von Anämie, Granulozytenanstieg, Hämoglobinabfall sowie eine erhöhte Calziumoxalatausscheidung im Urin festgestellt (WERNER et al., 1943a,b).

Kutane Applikation:

Örtliche Reizwirkungen von ME auf der Haut von Tieren wurden nicht beobachtet (LEHMANN & FLURY, 1938), die Substanz wird allerdings schnell resorbiert. Untersuchungen bei jungen Kaninchen ergaben LD_{50}-Werte zwischen 1,26 und 2 mg/kg (CARPENTER et al., 1956; DRAIZE et al., 1944).

Okuläre Applikation:

ME wird zusammen mit Methanol und Äthanol in Stufe 3 einer von 1 bis 10 reichenden Klassifizierungsskala von Augenveränderungen eingeordnet (CARPENTER & SMYTH, 1946). Bei Applikation der konzentrierten Substanz auf die Hornhäute von Kaninchen wurden Schmerzzustände, konjunktivale Veränderungen sowie Hornhautverschleierungen beschrieben (ROWE, 1963). Auch Eitersekretion wurde beobachtet (LEHMANN & FLURY, 1938).

Am Klinischen Institut für experimentelle Ophthalmologie der Universität Bonn ist ME als Lösungsmittel für verschiedene Pestizide verwendet worden. Dabei wurde es in verdünnter Form auf die Hornhäute von Rattenaugen getropft (ISMAIL, 1977). Veränderungen mit Krankheitswert konnten nicht festgestellt werden (BOETTEL, 1980).

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß der pathogenetische Mechanismus der im Einzelfall komplexen Befunde nicht genauer abgeklärt wurde. Während bei oraler und parenteraler Verabreichung Leber-, Magen-, Darm- und besonders Nierenveränderungen überwiegen, stehen bei Inhalation Lungen-, Nieren- und Blutbildschäden im Vordergrund. Auch die perkutane Wirkung von ME darf nicht unterschätzt werden. Veränderungen am Auge nach systemischer Applikation sind bisher nicht beschrieben worden.

Literaturübersichten finden sich bei BROWNING (1953) und ROWE (1963).

2. Wirkung von ME beim Menschen:

Akute ME-Vergiftungen sind bisher in zwei Fällen beobachtet worden.

YOUNG & WOOLNER (1946) berichten über einen 44jährigen Mann, der ca. 200 ml einer Mischung aus ME und Rum getrunken hatte, Ursache war eine Verwechslung. Der Mann wurde in komatösem Zustand in ein Krankenhaus gebracht, starb jedoch, ohne das Bewußtsein wiedererlangt zu haben. Zur Zeit der Einlieferung waren Atmung und Puls beschleunigt (28/95), bis zum Eintritt des Todes nahm die Atemfrequenz stark ab. Die Blutdruckwerte lagen bei 210/110. Im Urin fand sich Albumin und Äthanol, jedoch kein Methanol (unterstützt die Theorie von WILEY et al., 1938, s.o.), der Blutzucker war erhöht (150 mg%). Eine histologische Untersuchung post mortem ergab

Fettige Leberdegeneration,
Degenerativ-toxische Nierenveränderung,
Hämorrhagische Gastritis,
Hirnödem, Hyperämie der Meningen,
Lungenadhäsionen, Lungenödem,
Myokardhypertrophie, Perikarderguß,
Intimaveränderungen der Aorta,
Hämorrhagische Pankreatitis.

Eindeutige Aussagen, welche pathologischen Veränderungen als direkte Folge der ME-Intoxikation entstanden waren, ließen sich nur bei Magen, Leber und Nieren machen. Befunde dieser Organe sind mit einiger Sicherheit auf die Wirkung von ME zurückzuführen.

Der zweite Fall stammt aus Skandinavien: Zwei Männer hatten aus Verwechslungsgründen jeder ca. 100 ml ME getrunken (NITTER-HAUGE, 1970). Nach einem freien Intervall von mehreren Stunden traten Symptome auf wie

Verwirrung, Desorientiertheit, mot. Unruhe,
Hyperventilation, Schwindel,
Metabolische Azidose,
Proteinurie,
Hypertonie, Tachykardie,
Oxalurie, Nierenversagen,
Hyperkaliämie, Hyperkalziämie,
Fieber.

Die Oxalsäureausscheidung lag zwischen 100 und 1000 mg/h und damit weit über normal (10 - 40 mg/h). ME oder Methanol fanden sich nicht im Urin, die Augenbefunde waren in beiden Fällen unauffällig.

Aus dem Obengenannten ist zu erkennen, daß ME ganz ohne Zweifel eine für den Menschen hochtoxische Substanz darstellt. Bei akuter Gabe hat ME ab einer gewissen Dosis, die wohl individuell verschieden ist, eine toxische Potenz gegenüber allen Organen des Körpers, im Vordergrund steht die nephrotoxische Wirkung.

Über Augenveränderungen durch ME berichtet McLAUGHLIN (1946), jedoch fehlt die Angabe näherer Einzelheiten. Es wird lediglich erwähnt, daß es nach 48 Stunden zu einer völligen Ausheilung kam, so daß es sich vermutlich um keine schwerwiegende Veränderung handelte.

Chronische Vergiftungen sind durch das Einatmen von ME-Dämpfen mehrfach beschrieben worden. Erstmals 1936 (DONLEY) wurde über den Fall einer toxischen Encephalopathie bei einer 45jährigen Frau berichtet, die in einer Fabrik Hemden in eine Lösung aus ME, Isopropanol und Zelluloseazetat tauchte. Sie litt an:

Kopfschmerzen, Lethargie,
Abgeschlagenheit, Müdigkeit,
Desorientiertheit, Interesselosigkeit,
Psychosen,
Anisokorie,
Rhinitis, Bronchitis.

Auch PARSONS & PARSONS (1938) machten ME-Dämpfe bei zwei jungen Männern für ähnliche Beschwerden verantwortlich. Sie waren in einer Kragenfabrik beschäftigt und hatten ebenfalls die vergiftete Luft eingeatmet. Folgende Symptome wurden beobachtet:

Kopfschmerzen, Müdigkeit,
Abgeschlagenheit, Augenbrennen,
Persönlichkeitsveränderungen,
Nocturie,
Gastrointestinale Beschwerden,
Anämie, Lymphocytose, Granulocytopenie.

Besonders auffällig waren die Persönlichkeitsveränderungen, die eine Entwicklung von hoher Intelligenz zur tiefen Stupidität und Lethargie zeigte. Obwohl beide Patienten wieder völlig gesundeten, blieb die Lymphocytose auch nach Arbeitsplatzwechsel und antianämischer Behandlung bestehen. Augenveränderungen bestanden nicht.

Nach Bekanntwerden dieser beiden Fälle untersuchten GREENBERG et al. (1938) 19 weitere Mitarbeiter der gleichen Fabrik, die ebenfalls den ME-Dämpfen ausgesetzt waren. Es fanden sich ähnliche pathologische Veränderungen, wie

Exzessive Müdigkeit, Lethargie,
Reflexanomalien,
Mot. Unruhe, Händezittern,
Linksverschiebung, Anämie.

Bevor die ME-Luftkonzentration gemessen werden konnte, wurden die lufthygienischen Maßnahmen durch Klimaanlagen und Ventilatoren verbessert; Messungen ergaben danch einen ME-Luftgehalt zwischen 25 und 76 ppm. Vorher, dies wird vermutet, lagen die Werte wahrscheinlich wesentlich höher.

Über die jüngste Serie von Intoxikationen durch das chronische Einatmen von ME-Dämpfen wurde 1963 berichtet (MITCHELL & ZAVON): In einem Betrieb wurde ME als Lösungsmittel für Druckereitusche und Tinte und zeitweilig auch als Reinigungsmittel für den gesamten Arbeits- und Aufenthaltsbereich verwendet. Bei 5 Männern traten Zeichen auf wie

Müdigkeit, Lethargie,
Reflexanomalien, Zittern,
Kopfschmerzen, Verwirrtheit,
Unruhe, Nervosität,
Gewichtsverlust, Geschmacksverlust,
Stottern, Hörverlust,
Gedächtnisschwund,
Angst- und Depressionsgefühle,
Impotenz.

Eine Messung der Methoxyäthanolkonzentration in der Luft ergab im Arbeitsbereich Werte zwischen 60 und 220 ppm, in einem Fall 3960 ppm. Nachdem diese als katastrophal zu bezeichnenden Zustände durch verbesserte Industriehygiene abgeschafft werden konnten, lagen die Werte zwischen 10 und 20 ppm.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich die chronische Toxizität von ME durch Einatmen seiner Dämpfe auf Gehirn-, Blut- und Nierenveränderungen konzentriert. In der Industrie wurden nach dem Bekanntwerden des toxischen Potentials von ME die höchstzulässige ME-Konzentration auf 25 ppm festgesetzt (ELKINS, 1950).

Trotz fehlender Bestätigung beim Menschen warnen die Hygieniker vor Haut- und Augenkontakt mit ME, da es, wie Tierversuche zeigten (s.o.), möglicherweise in so starkem Maße resorbiert wird, daß eine toxische Wirkung nicht ausgeschlossen werden kann (DRAIZE et al., 1944). Daher wird dazu geraten, eine mit ME kontaminierte Hautstelle mit viel Wasser und Seife auszuwaschen. Bei Augenkontakt wird empfohlen, das Auge unter fließendem Wasser für mindestens 15 Minuten zu reinigen.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Als Versuchstiere wurden junge Albinoratten (Sprague-Dawley) verwendet, deren Körpergewicht zu Versuchsbeginn im Mittel bei 95 bzw. 65 g lag. Die Tierhaltung und Maßnahmen zur Tierunterscheidung wurden bereits beschrieben (vgl. 2.2.1).

3.2.2 Versuchsaufbau

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit war darüber berichtet worden, daß alle per os mit dem Lösungsmittelgemisch aus 2-Methoxyäthanol und Tween 80 behandelten Versuchstiere Linsenveränderungen aufwiesen. Es war daher in einem Experiment zu überprüfen, welche der beiden Komponenten für die beobachtete Wirkung verantwortlich war, oder ob möglicherweise beide Substanzen als linsenschädigend anzusehen waren (vgl. Tab.1).

Zur isolierten Verabreichung wurden drei Versuchsgruppen gebildet: Eine Tween-80-Gruppe mit 10 Tieren und zwei 2-Methoxyäthanol-Gruppen mit verschiedenen Konzentrationen, von denen die schwächere vier und die stärkere 6 Tiere umfaßte.

Experiment III:

Gruppe III1 : Tween 80 (25 Vol.-%)
Gruppe III2a: 2-Methoxyäthanol (12,5 Vol.-%)
b: 2-Methoxyäthanol (25 Vol.-%)

Nachdem die Wirkung diesmal nur bei den Tieren der Gruppen III2 und III3 auftrat, wurden in einem vierten Experiment zur Überprüfung einer Dosis-Wirkung-Beziehung und einer möglichen Beeinflussung durch konbinierte Verabreichung mit Tween 80 das 2-Methoxyäthanol in vier verschiedenen Konzentrationen mit und ohne Tween 80 appliziert, wobei je fünf Tiere eine Konzentration erhielten.

Experiment IV:

Gruppe IV 1/2a: 2-Methoxyäthanol (9 Vol.-%)/Tween 80 (25 Vol.-%)
Gruppe IV 1/2b: 2-Methoxyäthanol (18 Vol.-%)/"
Gruppe IV 1/2c: 2-Methoxyäthanol (37 Vol.-%)/"
Gruppe IV 1/2d: 2-Methoxyäthanol (75 Vol.-%)/"
Gruppe IV 3 : Leergruppe (unbehandelt)

3.2.3 Herstellung der Lösungen

Für alle Gruppen wurden entsprechende Mengen Tween 80 und 2-Methoxyäthanol in der angegebenen Konzentration mit destilliertem Wasser ad 3 g aufgefüllt. Jedes Tier erhielt täglich insgesamt 0,2 ml Lösung. Ausgehend von einem Körperdurchschnittsgewicht von 65 g lautete die Dosierung für 2-Methoxyäthanol somit

9	%	≙	270 mg pro kg und Tag
12,5	%	≙	375 mg " " " "
18	%	≙	540 mg " " " "
25	%	≙	750 mg " " " "
37	%	≙	1110 mg " " " "
75	%	≙	2250 mg " " " "

und für Tween 80 in jedem Fall

25	%	≙	750 mg pro kg und Tag

Die applizierten Dosen wurden während des Versuches dem Körpergewicht angepaßt.

Tween 80 ließ sich ohne Zugabe von 2-Methoxyäthanol erst nach leichtem Erhitzen vollständig mit Wasser vermischen, ansonsten wurden Applikationsmaterial und -technik bereits unter 2.2.3 dargestellt.

3.2.4 Voruntersuchung

Spaltlampenuntersuchung, Gewichtsbestimmung und Tierauswahl geschahen in der unter Punkt 2.2.4 beschriebenen Weise.

3.2.5 Versuchsdurchführung

Die Bestimmung der Körpergewichte, die Linsenpräparation und die Spaltlampenuntersuchung wurden bereits beschrieben (vgl. 2.2.5). Al-

le Linsenbefunde wurden schematisch in einen Linsenbefundbogen eingetragen. Zur Dokumentation auffälliger Befunde wurden diese mit der Photospaltlampe photographiert, als Filmmaterial diente Agfa CT 21. Nach dem letzten Versuchstag wurden die Augen der Versuchstiere in Äthernarkose enukleiert und die Linsen herauspräpariert, gewogen und eingefroren.

3.2.6 Weitere Untersuchungen

Zur Aufklärung des möglichen pathogenetischen Mechanismus bei der Entwicklung der 2-Methoxyäthanol-Katarakt wurden parallel zur vorliegenden Arbeit Untersuchungen über den Oxalat-, Lipid- und Kalziumgehalt der Linsen durchgeführt. Diese sind Gegenstand weiterer Dissertationen (STUTZ, 1981; KÖSTER, 1981). Außerdem wurde das allgemeine Verhalten der Tiere registriert.

Schließlich wurde der intraorale Befund festgehalten und Kalziumbestimmungen in den Zahn- und Knochensubstanzen vorgenommen, da sich zeigte, daß die mit 2-Methoxyäthanol behandelten Tiere schwere Entwicklungsstörungen der Zahnhartsubstanzen aufwiesen (vgl. JOSTEN, 1980).

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Experiment I

Die ersten Katarakte waren als Zufallsbefund im ersten Versuch (vgl. Abb.1) aufgefallen. Zu diesem Zeitpunkt war die eigentliche Noxe noch nicht bekannt und es war unsicher, ob die beobachteten Linsenveränderungen als Folge der 2-Methoxyäthanol- oder der Tween-80-Behandlung anzusehen waren. Auch bestand die Möglichkeit einer Wechselwirkung zwischen diesen beiden Lösungsmittelkomponenten.

Die Trübungen wurden erstmals am 20. Versuchstag gesehen und traten in den Gruppen I3 und I4 in gleicher Häufigkeit und Ausprägung

auf. Vergleichbare Befunde wurden auch in drei weiteren Versuchsgruppen beobachtet,.die im Rahmen parallel durchgeführter Untersuchungen zur möglichen linsentoxischen Wirkung anderer chlorierter Aniline, Dichloranilin (STUTZ, 1981), Trichloranilin (KÖSTER, 1981), Tetrachloranilin (JOSTEN, 1980) mit demselben Lösungsmittelgemisch und der jeweiligen Prüfsubstanz behandelt worden waren. Die Trübungen bestanden aus einer wasserklaren, subkapsulär gelegenen, dreieckigen oder trapezförmigen Quellungszone im Bereich des Schnittpunktes des hinteren Lambdanahtsystems (Abb.6a). Bei einzelnen Tieren fanden sich in diesem Bezirk zarte, granuläre Einlagerungen (Abb.6b). Da, wie erwähnt, zwischen den anilinbehandelten Tieren (Gruppe I3) und der Lösungsmittelkontrollgruppe hinsichtlich des Schweregrades keine Unterschiede bestanden, wurden jene nach 30 Tagen aus dem Versuch genommen.

Die Tiere der Gruppe I4 hingegen wurden weiterbehandelt und entsprechend beobachtet. In der Folgezeit wurde deutlich, daß die genannten Veränderungen am hinteren Pol der Linse zunächst an Größe zunahmen, wobei sich in den gequollenen, dreieckigen Rindenzonen zunächst ein feingranuläres, später ein groberes, bröckliges Material entwickelte. Schließlich kam es zur Entstehung relativ großer, kristalliner Ablagerungen in diesem Bezirk, die bei der Spaltlampenbeobachtung ein polychromatisches Schillern erkennen ließen (Abb. 6c,d). Trotz weiterer Behandlung mit dem Lösungsmittel nahmen die beobachteten Veränderungen vom 50. Versuchstag an nicht weiter zu. Am 60. Tag hatte sich sogar eine gewisse Rückbildungstendenz entwickelt, indem die Trübungen durch appositionelle Auflagerung klarer Linsensubstanz ins Innere der hinteren Rinde verlagert worden waren und an Intensität abgenommen hatten. Die farbschillernden kristallinen Bezirke hatten sich ebenfalls teilweise zurückgebildet (Abb. 7a-d).

Bis zu diesem Zeitpunkt hatte sich der Allgemeinzustand der meisten Tiere dermaßen verschlechtert, daß sie am 71. Versuchstag getötet wurden.

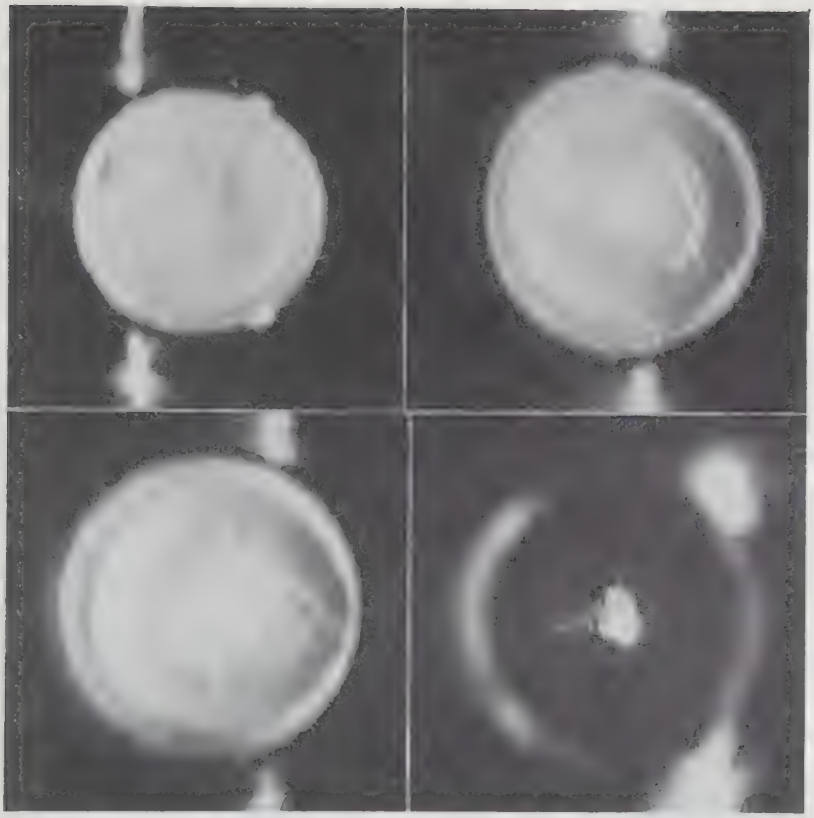


Abb. 6: Entwicklung von Linsentrübungen durch 2-Methoxyäthanol, Beobachtung am Spaltlampenmikroskop

a: Klarer, trapezförmiger Quellungsbezirk der hinteren subkapsulären Zone (36. Tag, 750 mg ME/kg, mit Tween 80, Experiment I)
b: Granuläre Veränderung in diesem Bereich (34. Tag dito)
c: Kristalliner, dreieckiger Trübungsbezirk unter der hinteren Kapsel (43.Tag dito)
d: Geringere Ausdehnung des getrübten Bezirks bei niedrigerer Dosis, polychromatische dreieckige Trübung (41. Tag, 540 mg ME/kg, ohne Tween 80, Exp. IV)

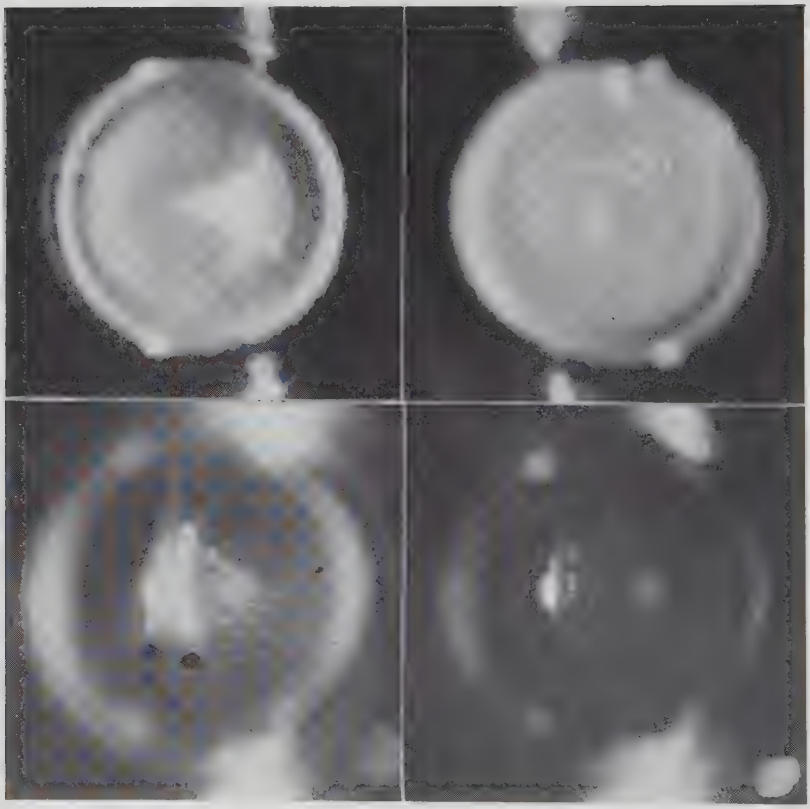


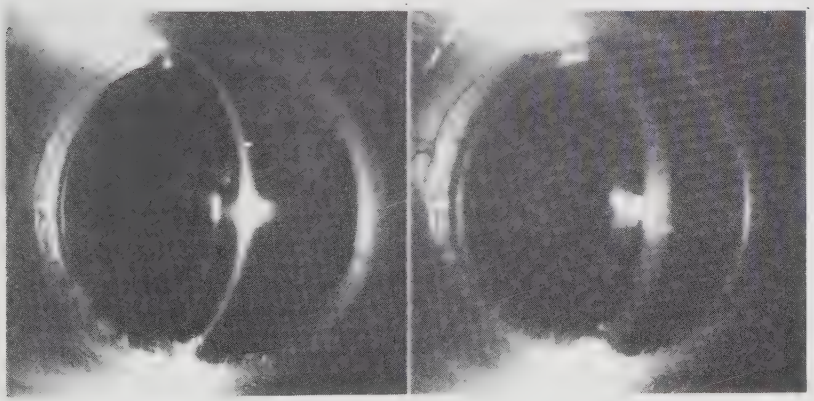
Abb. 7: Spaltlampenbefunde bei 2-Methoxyäthanol-Katarakt

a: Dreieckiger, weißlicher Trübungsbezirk unter der hinteren Kapsel nach 44 Tagen (750 mg ME/kg, mit Tween 80, Experiment I)
b: Teilweise Rückbildung der Trübung nach 71 Tagen (gleiche Gruppe)
c: Abrücken der getrübten Schicht von der hinteren Kapsel ins Linseninnere nach 71 Tagen, Beobachtung mit breitem Spalt (K = Kapsel; T = Trübung)
d: Deutliche Trennung zwischen Trübungszone und Hinterkapsel, Beobachtung mit schmalem Spalt (86. Tag, gleiche Gruppe; K = Kapsel, T = Trübung)

3.3.2 Experiment III

In diesem Versuch (vgl. Abb.1) sollte nun die Frage geklärt werden, welche der beiden Lösungsmittelkomponenten für die in Experiment I beobachteten Linsenveränderungen verantwortlich war. Daher wurden diesmal die gleichen Konzentrationen isoliert verabreicht, wobei der 2-Methoxyäthanol-Komplex durch zusätzliche Einführung der halben Ursprungskonzentration noch einmal zweigeteilt wurde (Gruppe III2a und b).

Es zeigte sich, daß Tween 80 als kataraktogene Ursache nicht in Frage kam, da alle Tiere dieser Gruppe (Gr. III1) bis zum Versuchsabschluß (100 Tage) normale Linsen aufwiesen. In den beiden mit 2-Methoxyäthanol behandelten Gruppen zeigten sich wiederum Linsentrübungen, die bezüglich der morphologischen Ausprägung denen des ersten Experiments entsprachen (Abb.7,8). Sie wurden erstmals am 31. Versuchstag bei der Gruppe III2b gesehen und bestanden in einer zar-



a b

Abb. 8: Umschriebene Trübungen am vorderen Pol in Experiment III nach 94 Tagen. Beobachtung mit schmalem (a) und breitem (b) Spalt (750 mg/ME/kg, mit Tween 80)

ten Quellung im Bereich des hinteren Nahtsystems. Bis zum 46. Versuchstag hatten diese Tiere zarte, meist granuläre, in einem Fall kristalline Veränderungen am hinteren Pol entwickelt, während die Katarakt bei den Tieren der Gruppe III2a erst am 66. Tag beobachtet

wurde. Das Trübungsmaximum war durch kristalline, granulär-bröcklige Einschlüsse mit polychromatisch schillerndem Charakter geprägt und wurde bei den letztgenannten Tieren am 94. Versuchstag festgestellt, während die Tiere der Gruppe III2b zu diesem Zeitpunkt schon rückgehende Tendenz zeigten. Jetzt waren auch erstmals bei 7 aller 9 mit 2-Methoxyäthanol behandelten Tiere Veränderungen am vorderen Linsenpol zu sehen, welche am Zusammenschluß der Y-Naht direkt subkapsulär in der vorderen Rinde lagen und - ähnlich denen an der Hinterfläche - aus kleinen, punktförmigen Einlagerungen bestanden (Abb.8). Sie entwickelten sich bei der Gruppe III2b noch weiter zu einer flächigen, rundlichen bis dreieckförmigen Trübung. Am letzten Versuchstag (100. Tag) war die Katarakt bei den Tieren der Gruppe III2a durch Abnahme der Farbintensität und Auflagerung klarer Linsensubstanz nun ebenfalls rückläufig, und in der Gruppe III2b waren nur noch vakuoläre, farbschwache Bestandteile zu erkennen.

Zusammenfassend ergab sich also aus diesem Versuch die Erkenntnis, daß der kataraktogene Bestandteil des Lösungsmittelgemisches 2-Methoxyäthanol war. Im Vergleich zum 1. Experiment schien in diesem zweiten Experiment trotz gleicher ME-Konzentration allerdings der Schweregrad der Trübungen weniger ausgeprägt zu sein bzw. eine bestimmte Trübungsintensität wurde erst zu einem späteren Zeitpunkt erreicht. Der Unterschied in der Behandlungsweise zwischen den kataraktogenen Gruppen in Experiment I und III bestand nun darin, daß die betroffenen Tiere im letztgenannten Versuch kein Tween 80 zusätzlich erhalten hatten. Es war daher zu diskutieren, ob die Entwicklung der ME-Katarakt durch den Zusatz von Tween 80 ungünstig beeinflußt wird. Diese Frage sollte in einem weiteren Experiment geklärt werden.

3.3.3 Experiment IV

In diesem Versuchabschnitt sollte erstens eine mögliche Wechselwirkung zwischen 2-Methoxyäthanol und Tween 80 geprüft werden (vgl. 3.3.2), weiterhin sollte durch Verabreichung unterschiedlich hoher Dosierungen geklärt werden, ob eine Dosis-Wirkung-Beziehung besteht und bei welcher Dosis keine Katarakte mehr auftreten.

Es zeigte sich, daß bereits nach einer Versuchswoche bei 15 von 18 Tieren der 4 höher dosierten Gruppen Linsentrübungen von unterschiedlichem Schweregrad auftraten, die denen der Experimente I und III entsprachen. Sie besaßen bei denjenigen Tieren der Gruppe IV2d (höchste ME-Dosierung + Tween 80) schon deutlich kristallinen Charakter, während in der Gruppe IV1d (entsprechende ME-Dosierung ohne Tween 80) noch 3 von 5 Tieren linsengesund waren. Dies waren zu diesem Zeitpunkt auch noch alle Tiere der Gruppe IV1a (niedrigste ME-Dosierung + Tween 80. Alle anderen Tiere zeigten unterschiedliche Linsenbefunde, welche von klaren, beetartigen Quellungszonen bis zu milchig trüben, feingranulären Katarakten variierten.

Nach 15 Tagen waren bereits 15 von 20 Tieren der 4 höher dosierten Versuchsgruppen gestorben, davon 9/10 in den beiden Gruppen mit, und 4/10 in den beiden Gruppen ohne Tween-80-Verabreichung. Die übrigen noch lebenden Tiere dieser Gruppen hatten bis zu diesem Zeitpunkt stärkere, feingranuläre Linsentrübungen entwickelt, in Gruppe IV1d mit deutlich kristalliner Ausprägung. Zwischen den beiden dosisgleichen Gruppen IV1b und IV2b bestanden kaum Unterschiede bezüglich der Trübungsintensität, hier herrschte eine mittelstarke, feingranuläre Form vor. In Gruppe IV1a zeigten 1 Tier und in Gruppe IV2a bereits alle Tiere eine beginnende Katarakt.

Am 34. Versuchstag hatten die meisten Tiere nun auch beginnende Trübungen am vorderen Linsenpol, wie sie in Experiment III beobachtet worden waren. Alle Tiere der beiden d-Gruppen waren gestorben, in den beiden c-Gruppen lebte jeweils noch 1 Tier mit maximaler kristalliner Katarakt in Gruppe 2 und mittelstarker Ausprägung in Gruppe 1. In den 4 anderen, niedriger dosierten Gruppen hatten die Veränderungen jetzt teilweise ihr Maximum erreicht, 4 Tiere in Gruppe IV1a waren noch ohne Befund.

Bei der letzten Beobachtung am 41. Tag wurden bei den noch lebenden, mit Tween 80 behandelten Tieren mittelstarke bis maximale Trübungen festgestellt, diesmal auch mit teilweise flächiger, ovaler bis dreieckiger Ausprägung am vorderen Pol. Sie traten bei den Tieren, welche nur 2-Methoxyäthanol erhalten hatten, lediglich in 2 Fällen auf. In Gruppe IV1a zeigten weiterhin 4 von 5 Tieren noch keine Veränderungen.

Zusammenfassend wurde in diesem Experiment die Vermutung bestätigt, daß die kataraktogene Wirkung von 2-Methoxyäthanol durch zu-

sätzliche Applikation von Tween 80 verstärkt wird, und daß die Trübungsintensität von der 2-Methoxyäthanol-Dosierung abhängig ist. Weiterhin ergab sich die Erkenntnis, daß eine zu hohe ME-Dosis (> 1g/kg/die) die Mortalität der Versuchstiere stark ansteigen läßt. Die Grenzdosis, bei der keine Linsentrübungen mehr auftreten, liegt wohl unter 250 mg/kg/die.

3.3.4 Zusammenfassende Darstellung der Spaltlampenbefunde

Zur Auswertung der individuellen Trübungsform, das heißt zum Erhalt "harter Daten" wurden alle aufgenommenen morphologischen Befunde in Anlehnung an photographische und zeichnerisch-schematische Darstellungen so klassifiziert, daß sechs Befundgruppen entstanden, von denen jede einer zu einem bestimmten Zeitpunkt beobachteten, besonders typischen morphologischen Ausprägung entsprach. Jede Befundklasse war nach steigender Numerierung ein Maß für den zeitlichen Entwicklungsstand, die räumliche Ausdehnung und Lokalisation, die Struktur (Homogenität, Transparenz) und den Farbcharakter der Trübung (Abb.9)

Befundgruppe O:

Gesunde transparente Linse.

Befundgruppe I:

Beetartiges, homogendurchscheinendes, gequollenes, meist dreieckigförmiges Areal direkt subkapsulär in der Rinde am Nahtzusammenschluß des hinteren Pols, teilweise mit einer aufgequollenen, klaffenden, faserig hervortretenden Naht.

Befundgruppe II:

Der vorher glasige, homogene Bereich ist deutlich getrübt, so daß eine echte Katarakt entstanden ist, deren Form und Umrisse teils dreieckig, teils trapezförmig erscheinen. Sie umfaßt einen umschriebenen, diskreten Bezirk und ist relativ scharf gegenüber den gesunden Teilen der Linse abgegrenzt. Man gewinnt

Abb. 9: Die 6 Stadien der 2-Methoxyäthanol-Katarakt in zeichnerischer Darstellung. O: Klare Linse; I-V: Trübungsentwicklung (siehe Text). Die Zeichnungen geben den Linsenbefund in 3 Ebenen wieder (von links nach rechts: vordere Rinde, optischer Schnitt, hintere Rinde)

den Eindruck, als handele es sich um Dreiecke, deren Spitzen abgeschnitten wurden. Die Lokalisation der Trübung ist die gleiche wie in Gruppe I, zusätzlich finden sich innerhalb der milchglasartigen Veränderungen kleine, wie eingestreute, punktförmige, feingranuläre Einlagerungen.

Tab. 14: Kataraktentwicklung der Gruppen I4 und III2 (a und b)

Tier-Nr.	Therapie pro kg Körpergewicht und Tag	Versuchstag 24.	35.	58.	71.		
1		I	III	IV	V		
2		I	II	IV	V		
3	750 mg ME +	I	II	IV	V		
4	750 mg PSM	II	II	III	IV		
5	(Gr. I4)	I	II	III	IV		
6		I	II	-*			
7		II	II	III	III		
8		I	II	III	V		
		18.	31.	46.	66.	94.	100.
1		O	O	O	I	III	IV
2	375 mg ME	O	O	O	II	III	V (+)
3	(Gr. III2a)	O	O	O	II	III (+)	IV (+)
4		O	O	O	I	III (+)	IV (+)
1		O	O	-*			
2		O	II	II	II	IV (+)	V (+)
3	750 mg ME	O	I	I	I	III (+)	V (++)
4	(Gr. III2b)	O	O	II	II	III (+)	V (++)
5		O	I	III	IV	IV (+)	V (++)
6		O	O	I	I	III (+)	V (++)

* verstorben

Befundgruppe III:

Es ist zu einer weiteren Ausdehnung der Katarakt in Richtung Linsenperipherie gekommen, die Abgrenzung zum nicht getrübten Linsengewebe ist unscharf, die Grenzlinien sind faserförmig ausgelaufen und verwaschen, sie gehen netzartig ineinander über. Bestimmte Anteile der Trübung sind bereits etwas tiefer in die inneren Rindenbereiche hineingerückt. Besonders deutlich fallen jetzt kristalline, feingranuläre bis kleinbröckelige Einschlüsse

Tab. 15: Kataraktentwicklung der Gruppen IV1 und IV2

Tier-Nr.	Therapie pro kg Körpergewicht und Tag	Versuchstag 7.	15.	34.	41
1		0	I	III (+)	III
2		0	0	0	0
3	270 mg ME	0	0	0	0
4	(Gr. IV1a)	0	0	0	0
5		0	0	0	0
1		0	II	III (+)	III (+)
2		0	II	II (+)	II
3	540 mg ME	I	II	II	II
4	(Gr. IV1b)	0	II	II	II
5		I	I	II	II
1		I	-*		
2		I	-		
3	1110 mg ME	II	-		
4	(Gr. IV1c)	I	II	-	
5		I	II	II (+)	II (+)
1		0	-		
2		II	III	-	
3	2250 mg ME	0	-		
4	(Gr. IV1d)	0	-		
5		II	III	-	
1		I	I	-	
2	270 mg ME +	II	II	II	II (+)
3	750 mg PSM	0	I	III (+)	III (++)
4	(Gr. IV2a)	I	I	I	II (+)
5		0	I	I	II (+)
1		II	II	II	III (+)
2	540 mg ME +	0	II	III (+)	III (+)
3	750 mg PSM	0	II	III (+)	III (++)
4	(Gr. IV2b)	0	II	II (+)	III (+)
5		0	0	-	
1		II	-		
2	1110 mg ME +	II	-		
3	750 mg PSM	II	II	III (+)	III (++)
4	(Gr. IV2c)	II	-		
5		II	-		
1		III	-		
2	2250 mg ME +	-			
3	750 mg PSM	III	-		
4	(Gr. IV2d)	III	-		
5		-			

* verstorben

auf, die das typische Bild dieses Stadiums durch ihren polychromatischen, intensiv schillernden Charakter prägen.

Befundgruppe IV:

Die größte Ausdehnung der Trübung ist überschritten und die Entwicklung nun rückläufig. Getrübte Bereiche haben sich verkleinert und lassen sich wieder von der Umgebung abgrenzen. Die Farbintensität der schillernden, kristallinen Zonen hat abgenommen, und die Trübung ist ins Innere der hinteren Rinde getreten, so daß zwischen ihr und der Kapsel am hinteren Pol ein schmaler deutlich sichtbarer Bezirk mit klarer Linsensubstanz erkennbar ist.

Befundgruppe V:

Die Katarakt hat sich weiter zurückgebildet. Im Inneren der hinteren Rinde im Bereich des engeren Nahtsystems liegen noch brökkelige, vakuolige, grobkristalline Bestandteile, deren Farbintensität jedoch nur gering ist.

Zusätzlich zu diesen typischen, im hinteren Linsenteil zu findenden Erscheinungen wurden auch in einigen Fällen beginnende, zarte Trübungen am vorderen Linsenpol beobachtet, die ersteren sehr ähnlich waren. Hierbei handelte es sich um kleine, begrenzte, punktförmig-granuläre Einlagerungen am Zusammenschluß der Y-Naht direkt subkapsulär in der vorderen Rinde, die sich zeitlich parallel zu der hinteren Form entwickelten. In Tabelle 14 und 15 sind sie durch ein Pluszeichen dargestellt. Stärker ausgeprägte, ovale bis dreieckige Veränderungen wurden durch zwei Pluszeichen symbolisiert.

3.3.5 Körpergewichte

Über den Verlauf des Körpergewichts während der Experimente III und IV informieren Tabelle 16 sowie die Abbildungen 10 und 11. Es ist zu erkennen, daß die beiden mit 2-Methoxyäthanol behandelten Gruppen III2a und III2b gegenüber der Tween-80-Gruppe III1, insbesondere zu Versuchsende hin, einen deutlich geringeren Gewichtsanstieg aufzuweisen hatten. Dies ist auch statistisch nachvollziehbar,

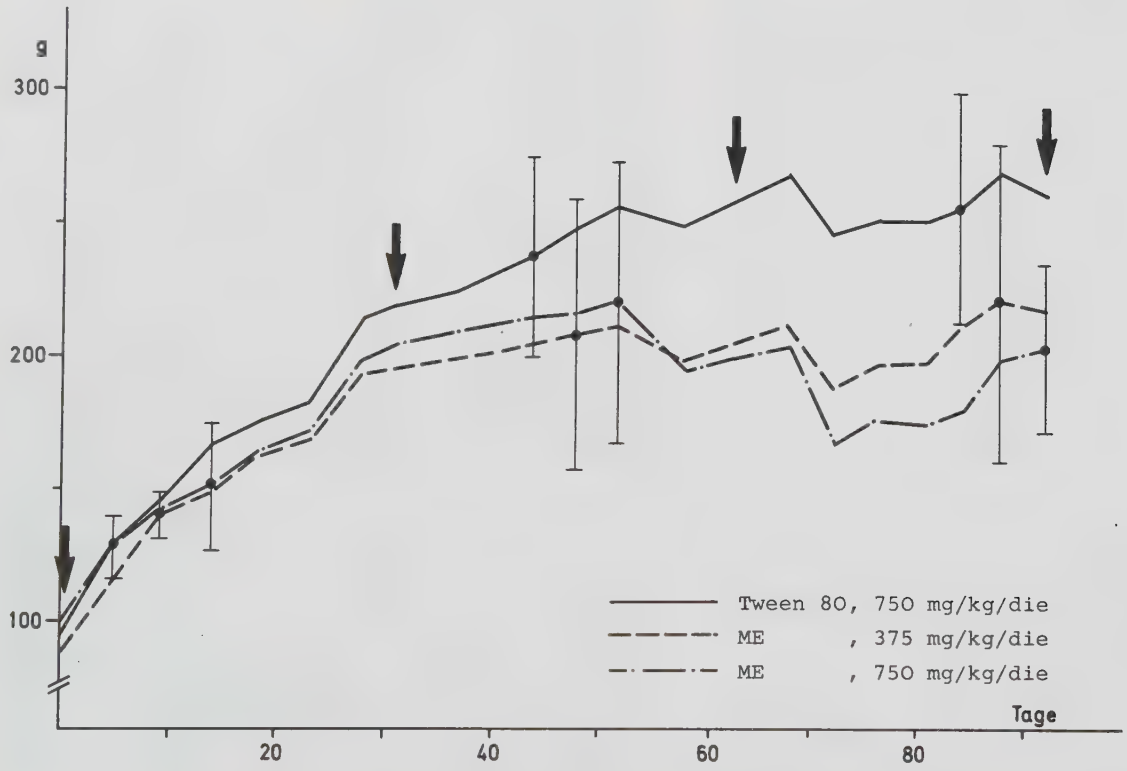
Tab. 16: Körpergewichte in Experiment III und IV in g (Mittelwerte und Standardabweichungen)

Therapie pro kg Körpergewicht und Tag	Gruppe		Versuchstag										
			0.	5.	9.	14.	18.	23.	28.	31.	37.	41.	44.
750 mg PSM	III1	$\bar{x}$	94	128	145	166	174	182	213	218	224	231	237
		s	8	11	16	20	26	32	33	36	39	39	38
375 mg ME	III2a	$\bar{x}$	89	116	139	148	161	168	191	195	199	201	204
		s	7	3	8	17	23	33	43	45	48	53	58
750 mg ME	III2b	$\bar{x}$	98	129	141	150	162	170	198	204	208	209	213
		s	9	20	22	24	29	36	37	39	40	44	50
			48.	52.	58.	63.	68.	72.	76.	81.	84.	88.	92.
750 mg PSM	III1	$\bar{x}$	247	256	248	257	267	245	250	250	255	268	260
		s	45	43	50	49	47	43	46	46	44	50	41
375 mg ME	III2a	$\bar{x}$	207	211	197	203	210	187	195	196	209	220	216
		s	52	46	35	37	39	41	47	47	55	60	67
750 mg ME	III2b	$\bar{x}$	215	220	194	199	203	166	175	174	178	198	202
		s	51	55	46	36	28	21	24	27	30	30	36

			0.	7.	15.	22.	27.	34.	41.	49.
270 mg ME	IV1a	$\bar{x}$	66	88	126	127	133	151	159	164
		s	3	8	12	17	15	16	19	18
540 mg ME	IV1b	$\bar{x}$	64	90	107	118	123	136	142	147
		s	4	6	23	23	22	25	22	18
1110 mg ME	IV1c	$\bar{x}$	63	79	93	96	87	-*		
		s	3	9	4	18	28	-*		
2250 mg ME	IV1d	$\bar{x}$	64	83	79	-*				
		s	4	13	23	-*				
270mgME + 750mgPSM	IV2a	$\bar{x}$	63	87	114	121	126	140	146	155
		s	3	7	23	25	22	21	21	24
540mgME + 750mgPSM	IV2b	$\bar{x}$	64	80	86	98	97	104	106	104
		s	2	1	11	8	9	6	3	11
1110mgME + 750mgPSM	IV2c	$\bar{x}$	66	62	-*					
		s	2	3	-*					
2250mgME + 750mgPSM	IV2d	$\bar{x}$	65	62	-*					
		s	5	11	-*					
-	IV3	$\bar{x}$	61	100	143	156	168	183	191	199
		s	3	2	3	4	6	5	5	7

* alle Tiere verstorben

Abb. 10: Verlauf des Körpergewichts (g) in Experiment III (Differenzierungsversuch)
Die Pfeile markieren Termine, für die eine Varianzanalyse durchgeführt wurde



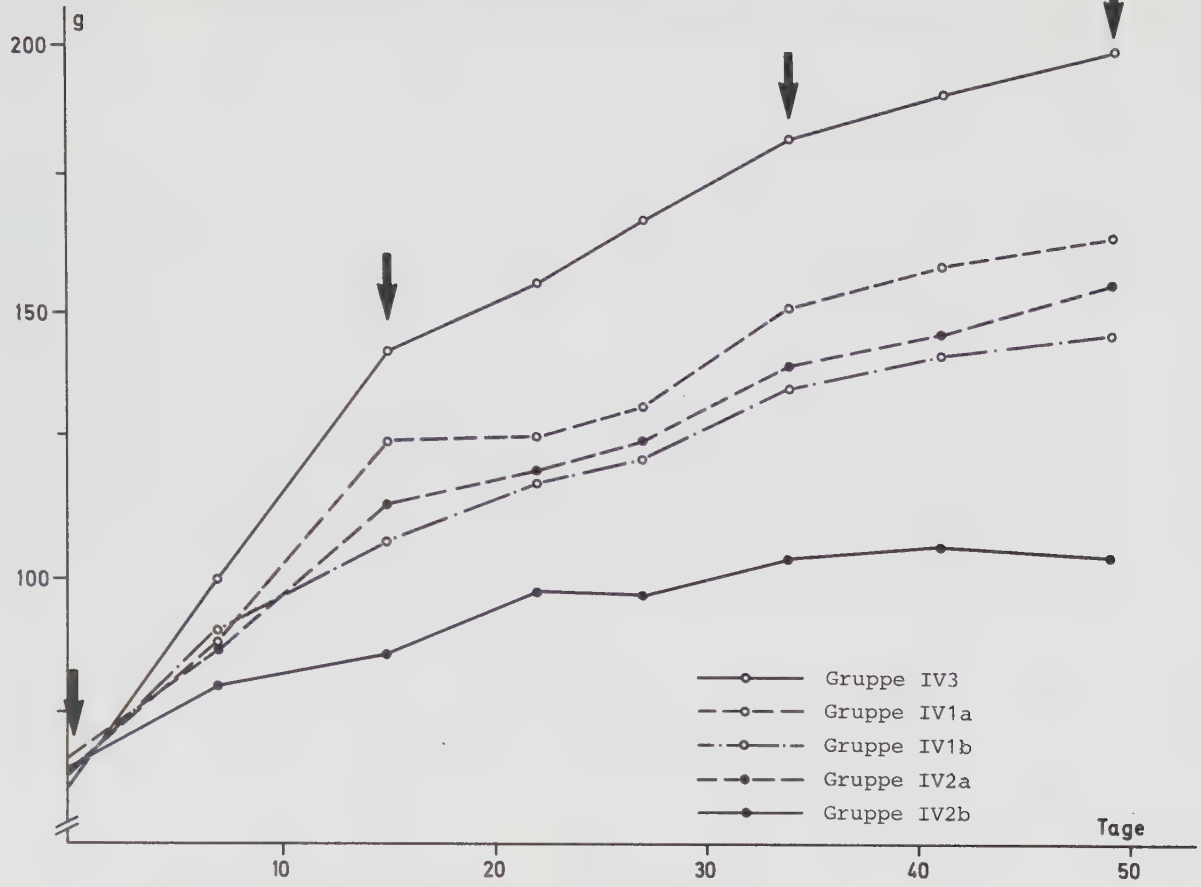


Abb. 11: Verlauf des Körpergewichts (g) in Experiment IV

da bei der Varianzanalyse über 4 Termine ein hochsignifikantes Niveau am 64. Versuchstag übertroffen und am 92. Versuchstag fast erreicht wird (Tab.17).

Tab. 17: Varianzanalyse für Körpergewichte aus Experiment III am Versuchsanfang, 31. Tag, 63. Tag und am Versuchsende (92. Tag)

Vers.Tag	Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
0.	Zwischen	194,85	2	97,43	1,41	-
	K_1(Dos.E.)	194,4	1	194,4	2,81	-
	K_2(Beh.E.)	0,45	1	0,45	0,01	-
	Innerhalb	1178,1	17	69,3		
	Gesamt	1372,95	19			
31.	Zwischen	1868,9	2	934,4	0,62	-
	Innerhalb	25474,1	17	1498,4		
	Gesamt	27342,9	19			
63.	Zwischen	14927,6	2	7463,8	3,91	$< 0,05$
	K_1(Dos.E.)	25,7	1	25,7	0,01	-
	K_2(Beh.E.)	14901,9	1	14901,9	7,81	$< 0,01$
	Innerhalb	30510,8	16	1906,9		
	Gesamt	45438,4	18			
92.	Zwischen	13360,2	2	6680,1	3,19	-
	K_1(Dos.E.)	464	1	464	0,22	-
	K_2(Beh.E.)	12896,1	1	12896,1	6,16	$< 0,05$
	Innerhalb	33315,9	16	2094,7		
	Gesamt	46876,1	18			

Die unterschiedliche 2-Methoxyäthanol-Dosierung hatte zu keinem Termin einen Einfluß auf das Gewichtsverhalten der Tiere ($p \gg 0,05$), wie auch aus Abbildung 10 deutlich wird.

In Experiment IV kam es nach ca. 10 Tagen zu einer Gewichtsdifferenzierung, deren Trend bis zum Versuchsende anhielt (vgl.Abb.11).

In Richtung steigenden Körpergewichts lautete die Reihenfolge Gruppe IV2b - 1b - 2a - 1a - 3. Die an 4 Behandlungsterminen durchgeführte Varianzanalyse ergab für den 15. und 34. Versuchstag sowie für das Versuchsende statistisch gesicherte Zusammenhänge des Körpergewichts

Tab. 18: Varianzanalyse für Körpergewichte aus Experiment IV am Versuchsanfang, 15. Tag, 34. Tag und am Versuchsende (49. Tag)

Vers.Tag	Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
0.	Zwischen	65,36	4	16,34	2,02	-
	K_1 (Beh.E.)	43,56	1	43,56	5,38	< 0,01
	K_2 (Tween.E.)	12,8	1	12,8	1,58	-
	K_3 (Dos.E.)	1,8	1	1,8	0,22	-
	K_4 (WW-E.)	7,2	1	7,2	0,89	-
	Innerhalb	162	20	8,1		
	Gesamt	227,36	24			
15.	Zwischen	9168,6	4	2292,1	8,56	< 0,01
	K_1 (Beh.E.)	4956,2	1	4956,2	18,51	< 0,01
	K_2 (Tween.E.)	1377,8	1	1377,8	5,15	< 0,01
	K_3 (Dos.E.)	2737,8	1	2737,8	10,23	< 0,01
	K_4 (WW-E.)	96,8	1	96,8	0,36	-
	Innerhalb	5354	20	267,7		
	Gesamt	14522,6	24			
34.	Zwischen	14798,9	4	3699,7	13,42	< 0,01
	K_1 (Beh.E.)	9566,4	1	9566,4	34,69	< 0,01
	K_2 (Tween.E.)	2092,8	1	2092,8	7,59	< 0,01
	K_3 (Dos.E.)	2640,2	1	2640,2	9,57	< 0,01
	K_4 (WW-E.)	272,2	1	272,2	0,99	-
	Innerhalb	4964	18	275,8		
	Gesamt	19762,9	22			
49.	Zwischen	20986,5	4	5246,6	19,56	< 0,01
	K_1 (Beh.E.)	12004,9	1	12004,9	44,75	< 0,01
	K_2 (Tween.E.)	2918,4	1	2918,4	10,88	< 0,01
	K_3 (Dos.E.)	4834,7	1	4834,7	18,02	< 0,01
	K_4 (WW-E.)	734,7	1	734,7	2,74	-
	Innerhalb	4828,7	18	268,3		
	Gesamt	25815,2	22			

mit den Einflußkomponenten Behandlung, 2-Methoxyäthanol-Dosierung und Tween 80-Zusatz ($p < 0,01$; Tab.18). Ein Wechselwirkungseffekt wurde zu keinem Zeitpunkt nachgewiesen.

Bei den 4 übrigen Versuchsgruppen war die Mortalität entsprechend der hohen 2-Methoxyäthanol-Dosen recht hoch (vgl.Tab.16), weshalb auf eine zeichnerische Darstellung sowie statistische Auswertung verzichtet wurde.

3.3.6 Linsenfrischgewichte

In Abbildung 12 sind die bei Versuchsabschluß ermittelten Linsenfrischgewichte aus Experiment IV dargestellt. Wegen der hohen Mortalität in den höher dosierten Gruppen IV1c, 1d, 2c und 2d konnten hier die Linsengewichte der Tiere nicht berücksichtigt werden.

In Experiment III waren keine Linsen präpariert worden.

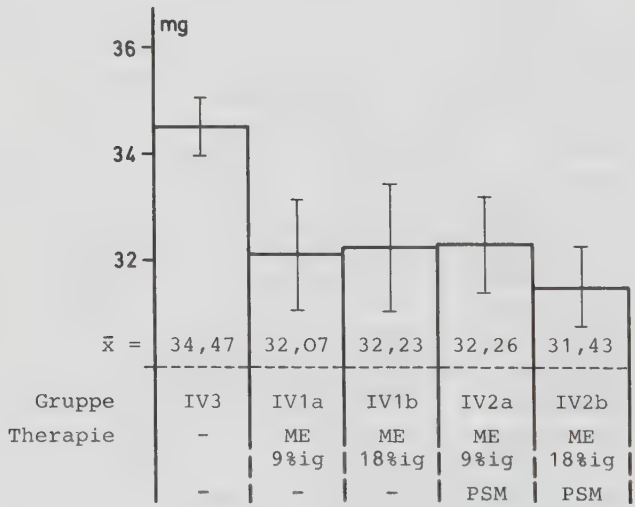


Abb. 12: Schematische Darstellung der Linsenfrischgewichte aus Experiment IV
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

Die statistische Auswertung ergab mit $p \ll 0{,}01$ einen signifikanten Gewichtsunterschied zwischen den Linsen der behandelten (2-Methoxyäthanol bzw. 2-Methoxyäthanol + Tween 80) und unbehandelten Versuchstieren (Tab.19). Die übrigen drei Faktoren Tween 80-Zusatz, ME-Dosierung und Wechselwirkung ergaben keinen gesicherten Zusammenhang mit dem Linsenfrischgewicht.

Tab. 19: Varianzanalyse für Linsengewichte aus Experiment IV bei Versuchsabschluß

Var.Urs.	SAQ	FG	MAQ	$\hat{F}$	p
Zwischen	19,6409	4	4,9102	6,3	$<$ 0,01
K_1 (Beh.E.)	13,6578	1	13,6578	17,52	$\ll$ 0,01
K_2 (Tween.E.)	0,8474	1	0,8474	1,09	-
K_3 (Dos.E.)	2,3132	1	2,3132	2,97	-
K_4 (WW-E.)	2,009	1	2,009	2,58	-
Innerhalb	10,1321	13	0,7794		
Gesamt	29,773	17			

3.3.7 Ergebnisse aus weiteren Untersuchungen

Allgemeiner Befund und Verhalten:

Das Befinden der Tiere war abhängig von der 2-Methoxyäthanol-Konzentration, die sie erhielten. Einigen ging es so schlecht, daß sie vor Versuchsende starben, wobei diese Tendenz durch Tween 80 noch verstärkt wurde. Zunächst wurde das Fell der Tiere stumpfgelblich und struppig, und es stellte sich eine gewisse Bewegungsunlust und Trägheit ein. Später wurde Nasenbluten und unsicherer, ataktischer Gang beobachtet. Kurz ante finem lagen die Tiere eigentümlich zitternd mit gebeugtem Rücken in ihrem Käfig und reagierten auf keinerlei Reize mehr.

Intraoraler Befund:

Auffällig war, daß nach einer gewissen Zeit je nach 2-Methoxy-

äthanol-Konzentration zunächst die Farbe der Schneidezähne von gelbbraun-transparent nach weißlich-kreidig wechselte. Dann wurde die Oberfläche weich und sie brachen schließlich teilweise ab. Bei manchen Tieren wuchsen sie auch wieder nach. Der Kalziumgehalt der Zähne war geringfügig erniedrigt, histologisch lagen Hinweise für Entkalkung vor. Genaue Untersuchungen hierüber sind Gegenstand einer weiteren Dissertation (JOSTEN, 1980).

3.4 Diskussion

Hauptergebnis der im 2. Teil der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen war, daß 2-Methoxyäthanol bei oraler Applikation über mehrere Wochen die Entstehung von Linsentrübungen hervorrufen kann und daß hierfür eine direkte Dosis-Wirkung-Beziehung besteht.

Zahlreiche Untersucher haben bei menschlichen Vergiftungsfällen und bei Tierversuchen die Wirkungen dieser Chemikalie untersucht, keiner konnte bisher jedoch auf ihre kataraktogene Wirkung hinweisen. Dies kann an einer Artspezifität der verwendeten Versuchstiere oder einfach daran liegen, daß genauere diesbezügliche Untersuchungen bisher nicht durchgeführt wurden. Sicherlich spielt in diesem Zusammenhang auch die Applikationsform und die davon abhängige Resorptionsrate der Substanz eine entscheidende Rolle.

Es ist bisher in der Literatur noch keine tierexperimentell beobachtete Starform beschrieben worden, die der 2-Methoxyäthanol-Katarakt morphologisch gleicht. Es handelt sich daher möglicherweise um eine eigenständige, bisher unbekannte Form, was bedeutet, daß 2-Methoxyäthanol selbst oder ein Metabolit kataraktogen wirkt. Lediglich beim Menschen gibt es eine klinisch relevante Trübungsform mit ähnlich farbschillerndem Charakter - die sogenannte Christbaumkatarakt -, an die man bei Betrachtung erinnert wird (BUNGE, 1938), deren Genese jedoch ebenfalls noch nicht geklärt ist.

Der Entstehungsmechanismus der 2-Methoxyäthanol-Katarakt ist noch unbekannt, es wurde lediglich beobachtet, daß nach einer gewissen Versuchszeit ein Stillstand in der Entwicklung eintrat, indem die primär oberflächlich unter der hinteren Kapsel liegenden getrübten

Bestandteile der Linse durch ungestörtes appositionelles Wachstum in tiefere Linsenschichten verdrängt wurden, was Ausdruck einer Adaptation des Organismus gegenüber der Giftwirkung sein könnte. Für eine Ablagerung salzartiger Strukturen in der Linse spricht das kristalline, außerordentlich polychrome Bild der Trübung. Möglicherweise handelt es sich auch zusätzlich um eine Änderung des Quellungszustandes der Linsenfasern, an dem 2-Methoxyäthanol nur indirekt ursächlich beteiligt ist.

In diesem Zusammenhang sind insbesondere drei Möglichkeiten für die Wirkungsweise der Substanz an der Linse zu diskutieren:

1. 2-Methoxyäthanol wird im Rattenkörper nach hydrolytischer Spaltung zu Äthylenglykol und durch Oxidation zu Oxalsäure metabolisiert, welche nach Bindung mit Kalziumionen als unlösliches Kalziumoxalat in der Linse ausfällt. Außerdem wird durch das Wegfangen der Ca-Ionen deren kapseldichtende Funktion hinfällig (FRIEDENWALD, 1930).

In Tierversuchen konnte diese Theorie der Oxalsäurebildung bisher nicht bestätigt werden. Auch beim Menschen ist bisher nur ein Fall von 2-Methoxyäthanol-Vergiftung bekannt, bei dem eine Oxalurie und eine Hypokalzämie beschrieben sind (NITTER-HAUGE, 1970). Der Autor weist auf die Möglichkeit hin, daß die Oxalurie bei gleichzeitig bestehender metabolischer Azidose ein Zeichen für die Entstehung von Äthylenglykol ist, aus dem, wenn auch nur zu geringem Teil (HANZLIK et al., 1931), Oxalsäure im menschlichen Körper entstehen kann (FRIEDMANN et al., 1962). Hierfür sprach die im beschriebenen Fall einsetzende Verbesserung des Patientenzustandes nach Infusion von Äthylalkohol, welcher auch erfolgreich bei Äthylenglykolvergiftungen (WRACKER, 1965) eingesetzt wird. Dagegen stand jedoch die geringe Nierenschädigung bei dem Patienten im Widerspruch zu den oft beschriebenen Fällen von schwerem Nierenversagen nach Vergiftungen mit Äthylenglykol (SEEF et al., 1970; PARRY & WALLACH, 1974).

Man erkennt, daß die Biotransformation von 2-Methoxyäthanol im menschlichen Organismus noch nicht aufgeklärt ist. Obwohl die Oxalat- und Kalziumbestimmung in den durch die Substanz getrübten Linsen keine Anhaltspunkte für die Anreicherung oder Abnahme von Oxalsäuresalzen bzw. Kalziumionen brachten (STUTZ, 1981), erscheint es doch sinnvoll, in Zukunft zumindest rein theoretisch allen möglichen Wegen von 2-Methoxyäthanol im Säugetierstoffwechsel nachzugehen. Si-

cherlich finden sich nach Klarstellung des Metabolismus weitere Denkansätze, möglicherweise auch für tierexperimentelles Vorgehen.

2. Entsprechend dem spezifischen Charakter von 2-Methoxyäthanol als Lösungsmittel ist es denkbar, daß die Substanz biologische Membranen labilisiert, was zur Auflösung derselben führt, wie dies bei Erythrozyten der Fall ist (hämolysierende Wirkung; s.CARPENTER et al., 1956). In analoger Weise könnten dann auch die Linsenfasern quellen, die Zellpermeabilität würde erhöht, und es würde eine Ablagerung freigewordener Lipid-Kristalle (Cholesterin) im Linseninneren resultieren. Außerdem würde die Zelle dann versuchen, durch Membranschäden verlorengegangene Lipide oder ähnliche Stoffe nachzuliefern, so daß ein Überschuß entstünde, der im interzellulären Raum ausfallen und als reflektierendes, granuläres Material in der Linse liegenbleiben könnte. Der Vorstellung einer Quellung der geschädigten Linsenzellen steht allerdings entgegen, daß die betroffenen Linsen insgesamt leichter waren, als die der nicht behandelten Tiere.

Vom menschlichen Altersstar ist bekannt, daß Veränderungen im Linsenstoffwechsel einen Einfluß auf die Transparenz der Linse haben. So konnte polarisationsmikroskopisch und optisch der Nachweis erbracht werden, daß es sich "bei den bekannten farbig glitzernden Kristallhaufen im Kern seniler Linsen bei Cataracta coronaria um typische nadelförmige Cholesterinkristalle handelt" (PURTSCHER, 1941). Ein Zusammenhang zwischen Star und Lipidstoffwechsel der Linse besteht somit zweifellos, zumindest beim Menschen, wenn auch hier noch keine völlige Klarheit herrscht. Ob diese Beziehung in gleicher Weise für die Rattenlinse zutrifft, ist nicht bekannt. Zumindest besteht die hypothetische Möglichkeit, daß nicht nur morphologisch eine Analogie zwischen der menschlichen Cholesterinkatarakt und dem 2-Methoxyäthanol-Star besteht, zumal das gemeinsame Merkmal beider der typisch kristallin schimmernde Charakter ist. Ein negativer Befund bei der Linsenlipidbestimmung (KÖSTER, 1981) und die Tatsache, daß der Cholesteringehalt getrübter menschlicher Linsen durchaus normal sein kann (BUNGE, 1938) sprechen allerdings gegen diese Theorie. Trotzdem kann eine ursächliche Beteiligung der lipoiden Linsenstrukturen an der Kataraktentstehung nicht ausgeschlossen werden.

3. Es handelt sich um eine Form der Cataracta hypocalcämica. Wie bereits ansgeführt, besteht die hypothetische Möglichkeit, daß Se-

rumkalzium an Oxalat gebunden wird, eine Hypokalzämie wäre die Folge.

Zahlreiche Befunde sprechen tatsächlich für eine Veränderung im Kalziumstoffwechsel der Versuchstiere. So deuten die Zahnveränderungen und besonders das Auftreten von Muskelkrämpfen zu Ende der Versuchszeit auf einen hypokalzämischen Zustand hin. JOSTEN (1980) hat beobachtet, daß mit 2-Methoxyäthanol behandelte Ratten tatsächlich eine Hypokalzämie entwickeln. Vergleichbare Zahnveränderungen, die sehr deutlich auf eine Hypokalzämie hinweisen, sind schon im Falle der Hypokalzämiekatarakt bei Ratten beschrieben worden (ERDHEIM, 1906; HIROISHI, 1924; SIEGRIST, 1928; vgl. JOSTEN, 1980).

Seit dem vorigen Jahrhundert ist bekannt, daß im menschlichen Organismus enge Zusammenhänge zwischen Nebenschilddrüsenfunktion, Muskelerregbarkeit und Blutkalziumgehalt einerseits und bestimmten Linsentrübungen andererseits direkte Zusammenhänge bestehen (z.B. LANDSBERG, 1888; ERDHEIM, 1906). Nach Parathyreoidektomie kommt es zur Erniedrigung des Ca/PO_4-Verhältnisses im Serum durch erhöhte Kalziumurinausscheidung und Zunahme der PO_4-Resorption im Darm. Die bestehende Hypokalzämie kann zu Übererregbarkeit und Linsentrübungen (BUSCHKE, 1943) sowie weiteren organischen Störungen führen. Die in diesen Fällen entstandenen Linsentrübungen sind daher auch als Cataracta hypocalcämica bzw. tetanica bezeichnet worden.

Die Zahl der tierexperimentellen Untersuchungen zum Thema Tetaniekatarakt ist groß, wobei sowohl die Zusammenhänge zwischen Muskelsymptomen und Starbildung als auch die Morphologie häufig diskutiert wurden.

Bedauerlicherweise sind die Beschreibungen von hypokalzämischen Katarakten bei der Ratten oft nicht so genau, daß man aus dem Vergleich dieser Katarakte mit der hier beobachteten 2-Methoxyäthanol-Trübung weitere Aufschlüsse gewinnen könnte. Eigene Erfahrungen mit hypokalzämischen Katarakten bei der Ratte liegen nicht vor. Die beste morphologische Beschreibung in der Literatur stammt wohl von GOLDMANN (1929). Nach seinen Beobachtungen sind die Veränderungen vorwiegend in der vorderen subkapsulären Rindenschicht zu finden, während die unter 2-Methoxyäthanol auftretenden Trübungen sich vorwiegend in der hinteren subkapsulären Rindenschicht abspielen. Dieser morphologische Unterschied würde gegen eine gemeinsame Ursache der beiden Trübungsformen sprechen. Jedoch ist zu bedenken, daß die

morphologische Ausprägung einer Katarakt unter verschiedenen Versuchsbedingungen gegebenenfalls erheblich variieren kann. So weiß man zum Beispiel, daß die verschiedenen Formen von Zuckerkatarakten (Cataracta diabetica, Galaktosekatarakt, alimentäre Xylose- und Arabinosekatarakt), die alle auf demselben Wirkungsmechanismus beruhen, morphologisch erhebliche Unterschiede aufweisen (KOCH, 1976; KELLER et al., 1977). Insofern ist durchaus die Möglichkeit vorstellbar, daß es sich bei der 2-Methoxyäthanol-Katarakt um eine unterschiedliche morphologische Ausprägung einer primär durch Hypokalzämie hervorgerufenen Trübung handelt.

Im übrigen ist die Pathogenese der Cataracta tetanica und die Rolle, die das Kalzium hierbei spielt noch nicht völlig geklärt, denn einerseits kann der Kalziumspiegel in getrübten Linsen durchaus völlig normal sein (SWAN & SALIT, 1941), andererseits kann ein Kalziummangel in vitro zur Zerstörung des zellulären Ionengleichgewichts in der Linse führen (BAHR, 1940 ; HARRIS & GEHRSITZ, 1976), was zur Kataraktentstehung führt.

Man sollte in Zukunft anhand eines Parallelversuches die morphologische Ausprägung zwischen dem 2-Methoxyäthanol-Star und der Cataracta tetanica vergleichen, um auch hier genauere Aussagen machen zu können. Weiterhin bietet sich eine Elektromyographie, ein EKG sowie eine Blutkalziumverlaufskontrolle der vorher parthyreoidektomierten Tiere während des Versuchs an. Um Gewißheit über die Ursache der muskulären Tetanieanzeichen zu erhalten, könnte man Kalziumlaktat geben: Kalziumbedingte Zuckungen müßten nach oraler Gabe dieser Lösung schnell verschwinden und nach dieser Maßnahme dürften keine Linsentrübungen mehr auftreten (GOLDMANN, 1929). So könnte man auch gleichzeitig bestimmte Tiere mit 2-Methoxyäthanol u n d Kalziumlaktat behandeln und abwarten, ob sich das Verhalten und die Trübungsintensität grundlegend von denen der nicht zusätzlich mit Kalzium behandelten Tiere unterscheidet.

Es läßt sich zur Zeit noch nicht sicher sagen, ob eine der aufgeführten Hypothesen zutrifft und ein anschauliches Denkmodell für Ätiologie und Pathogenese der 2-Methoxyäthanol-Katarakt liefert. Möglicherweise handelt es sich auch um eine völlig eigenständige Form der Trübung, die bisher wirklich noch niemals beobachtet worden ist. Daher muß es die Aufgabe weiterer Forschung sein, die Zusammenhänge im Kalzium- und 2-Methoxyäthanol-Stoffwechsel sowie die Inter-

aktion zwischen dieser Substanz oder einem ihrer Metaboliten und Energieträgern des Linsenstoffwechsels (z.B. Glykolyse) zu untersuchen, um den Mechanismus der Kataraktentwicklung zu ergründen.

Der stark eingeschränkte Allgemeinzustand und das klinische Verhalten der Tiere war - dies wurde bereits während des Versuches klar - eindeutig Folge einer toxischen Einwirkung durch 2-Methoxyäthanol. Die Auswertung der Körpergewichte als ein grobes Maß für das Befinden der Tiere bestätigte dies und erbrachte eine ebenfalls im Versuchsverlauf beobachtete Dosisabhängigkeit. Somit konnte auch in der vorliegenden Arbeit auf die hochtoxische Wirkung der Substanz hingewiesen werden, wie sie von vielen Autoren bei früheren tierexperimentelle Untersuchungen beschrieben worden sind.

Der spezifische Wirkungsmechanismus von 2-Methoxyäthanol im Organismus der Versuchstiere wurde nicht untersucht. Genauere Ausführungen hierüber sind Gegenstand anderer Dissertationen (vgl. JOSTEN, 1980; STUTZ, 1981).

Für die Wirkungsweise von Tween 80, welches sich zwar selbst nicht als kataraktogen erwies, aber die Wirkung von 2-Methoxyäthanol deutlich verstärkte und beschleunigte, gibt es zur Zeit nur wenige Anhaltspunkte. Tween 80 ist ein ausgezeichneter Emulgator und wird in der Nahrungsmittelindustrie auch dementsprechend eingesetzt. Seine Hauptfähigkeit wird bestimmt durch eine gewisse absorptions- und resorptionsdynamische Wirkung (JONES et al., 1948; KANEDA et al., 1975; SHELTAWY & LOSOWSKY, 1975; HIKAL et al., 1976). Dies bedeutet, daß er die Aufnahme von Fett und fettähnlichen Substanzen erleichtert und verbessert, indem er in ähnlicher Weise wie Gallensäuren ein Bindeglied zwischen der Dünndarmschleimhaut und dem zu resorbierenden Darminhalt darstellt. Somit ist zu diskutieren, ob 2-Methoxyäthanol dem gleichen Mechanismus gehorcht, oder ob beide Stoffe bzw. ihre Metaboliten erst nach Aufnahme in die Blutbahn oder in anderen Organen - womöglich erst in der Linse selbst in gegenseitige Wechselwirkung treten. Vielleicht verzögert Tween 80 den Abbau und die Ausscheidung von 2-Methoxyäthanol und bewirkt somit, daß die Linsentrübungen zeitlich protrahiert und verstärkt auftreten.

Obwohl sich diese Fragen nach den vorliegenden Ergebnissen noch nicht beantworten lassen, ist es sinnvoll, bei weiteren Versuchen mit 2-Methoxyäthanol oder anderen kataraktogenen Lösungsmitteln ebenfalls Tween 80 zu verwenden, um seine spezifische Wirkung zu

überprüfen. Ein Wechsel der Applikationsform könnte hier weiterführen.

4 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Teile:

Im ersten Teil wurde bei jungen Albinoratten in vivo untersucht, ob das Pestizid Parachloranilin einen Einfluß auf die Entstehung von Linsentrübungen hat. Weder nach lokaler Applikation am Auge (30 mg/kg/die) über 18 Wochen noch nach systemischer Gabe (15mg/kg) über 9 Wochen konnten Anzeichen einer linsenschädigenden Wirkung des Stoffes festgestellt werden. Als Nebenbefund wurde lediglich ein starker hämatotoxischer Effekt beobachtet.

Bei oraler Verabreichung des gleichzeitig verwendeten Lösungsmittelgemisches aus 2-Methoxyäthanol und Tween 80 kam es zu Linsentrübungen, die auch bei den nur mit Lösungsmittel behandelten Kontrolltieren auftraten.

Im zweiten Teil wurde gezeigt, daß die Lösungsmittelkomponente 2-Methoxyäthanol für die Entstehung der Katarakt verantwortlich war, und es konnte festgestellt werden, daß die morphologische Ausprägung der Trübung von der verabreichten Konzentration der Substanz abhängig war.

Durch zusätzliche Gabe der zweiten Komponente Tween 80 ließ sich die Wirkung von 2-Methoxyäthanol insofern steigern, als die Veränderungen zu einem früheren Zeitpunkt und verstärkt auftraten. Tween 80 selbst erwies sich bei alleiniger Verabreichung nicht als kataraktogen.

5 Literaturverzeichnis

AXELSON, U., HOLMBERG, A.: The frequency of cataract after miotic therapy. Acta Ophthal. (Kbh.) 44, 421-429 (1966)

BAHR, G.VON: The influence of calcium deficiency on the surviving rabbit's lens. Acta Ophthal. (Kbh.) 18, 170-189 (1940

BEILSTEIN: Handbuch der oragnischen Chmie. Ergänzungswerk, Bd.3, S. 1325. Springer: Berlin (1972)

BEILSTEIN: Handbuch der organischen Chemei. Ergänzungswerk, Bd.4, S.2375. Springer: Berlin (1974)

BERLINER, M.L.: Cataract following the inhalation of paradichlorbenzene vapor. Arch.Ophthal. (Chicago) 22, 1023-1034 (1939)

BERNSTEIN, H.N., CURTIS, J., EARL, F.L., KUWABARA, T.: Phototoxic corneal and lens opacities. Arch.Ophthal. (Chicago) 83, 336-348 (1970)

BHUYAN, K.C., BHUYAN, D.K., KATZIN, H.M.: Amizol induced cataract and inhibition of lens catalase in rabbits. Ophthal.Res. 5, 236-247 (1973)

BÖHME, H., HARTKE, K.: Polyäthylenglykolsorbitoleat. In: Deutsches Arzneibuch Nr.7, S.1245-1249. Wissensch.Verlagsgesellschaft: Stuttgart (1968)

BOETTEL, M.: Untersuchungen über die Wirkung von Pentachlorphenol, 2,4,5-Trichlorphenol und Chlorferron auf die Linsentransparenz von Ratten. Diss.Bonn (1980)

BORDELEAU, L.M., BARTHA, R.: Biochemical transformation of herbicide-derived anilines, requirement of molecular configuration. Canad.J.Microbiol. 18, 1873-1882 (1972)

BROWNING, E.: Ethylenglycolmonomethylether. In: Toxicity of industrial organic solvents. S.345-348. Her Majestys Stat.Off.: London (1953)

BUNGE, E.: Der Cholesteringehalt normaler und getrübter menschlicher Linsen. Graefes Arch.Ophthal. 139, 50-61 (1938)

BUSCHKE, W.: Classification of experimental cataracts in the rat. Arch.Ophthal. (Chicago) 30 735-750 (1943)

CARPENTER, C.P., POZZANI, U.C., WEIL, C.S., NAIR, J.H., SMYTH, H.F.: The toxicity of buthyl cellosolve solvent. J.amer.med.Ass. 14, 114-131 (1956)

CARPENTER, C.P., SMYTH, H.F.: Chemical burns of the rabbit cornea. Amer.J.Ophthal. 29, 1363-1372 (1946)

CHRISTENSEN, H.E., LUGINBYHL, T.T.: Registry of toxic effects of chemical substances. S.107. US-Department of Health, Education and Welfare: Rockville (1976)

DALY, J.W., GUROFF, G., UDENFRIEND, S., WITKOP, B.: Hydroxylation of alkyl and halogen substituted anilines and acetanilides by microsomal hydroxylases. Biochem.Pharmacol. 17, 31-36 (1968)

DOLL, G., HACKENTHAL, E.: Untersuchungen über Phenacetin und einige chemisch verwandte Substanzen. Arzneimittelforsch. 13, 68-71 (1963)

DONLEY, D.E.: Toxic encephalopathy and volatile solvents in industry. J.ind.Hyg.Toxicol. 18, 571-577 (1936)

DRAIZE, J.H., WOODARD, W., CALVERY, H.D.: Methods for the studies of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and other mucous membrans. J.Pharmacol.exp.Ther. 82, 377-390 (1944)

ELKINS, H.B.: Maximal allowance concentration. In: The chemistry of industrial toxicology. S.214-226. Wiley & Sons: New York, Chapman & Hall: London (1950)

ELSON, L.A., GOULDEN, F., WARREN, F.L.: The Metabolism of aromatic amines in relation to carcinogenesis. Brit.J.Cancer 12, 108-115 (1958)

ELSON, L.S., SPINKS, A., TOTTEY, M.M.: Some pharmacological properties of p-chloraniline. Biochem.J. 42, 153 (1948)

ERDHEIM, J.: Tetania parathyreopriva. Mitt.Grenzgeb.Med.Chir. (Jena) 16, 632-744 (1906)

FAIVRE, M., ARMAND, J., EVREUX, J.C., DUVERNEUIL, G., COLIN, C.: Methemoglobinémie toxique par des dérivés del aniline: parachloraniline et paratoluidine. Arch.Mal.prof. 32, 575-577 (1971)

FRIEDENWALD, J.S.: Permeability of the lens capsule. Arch.Ophthal. (Chicago) 3, 182-193 (1930)

FRIEDMAN, E.A., GREENBERG, J.B., MERRIL, M.P., DAMMIN, G.J.: Consequences of ethylenglycol poisoning. Amer.J.Med. 32, 891-902 (1962)

GOLDMANN, H.: Experimentelle Tetaniekatarakt. Graefes Arch.Ophthal. 122, 146-197 (1929)

GREENBERG, L., MAYERS, M.R., GOLDWATER, E.J., BURKE, W.J., MOSKOWITZ, S.: Health hazards in the manufactoure of fused collars: Exposure to ethylenglycolmonomethylether. J.ind.Hyg.Toxicol. 20, 134-147 (1938)

GROSS, E.: zit.bei LEHMANN, K.B., FLURY, F. (1938)

HAGIWARA, A., SUGIWIA, S.: The use of castor-oil and tween 80 as an ophthalmic base. Acta Soc.Ophthal.Jap. 57, 1-5 (1953)

HALD, J.: Undersogelser over acet-4-kloranilid som forurening i fenacetin. Dansk.T.Farm. 24, 183-195 (1950)

HALL, D.A.: The caracterization of an new lipolytic enzyme in pancreatic extracts. Biochem.J. 78, 491-499 (1961)

HAMBLIN, D.O.: Aromatic nitro and amino compounds. In: PATTY, F.A.: Industrial hygiene and toxicology. S.2134. Interscience Publishers, Wiley: London & New York (1963)

HANZLIK, P.J., SEIDENFELD, M.A., JOHNSON, C.C.: General properties irritant and toxic actions of ethylenglycol. J.Pharmacol.exp.. Ther. 41, 387-406 (1931)

HARRIS, J.E., GEHRSITZ, L.B.: Significance of changes in potassium and sodium content of lens. Amer.J.Ophthal. 34, 131-138 (1976)

HIKAL, A.H., DYER, L., WONG, S.-W.: Effect of polysorbate 80 on apparent partition coefficient of salicyclic acid and its absorptton from the rat intestine. J.pharm.Sci. 65, 621-623 (1976)

HIROISHI, H.: Über die parathyreoprive Kataraktbildung bei Ratten. Graefes Arch.Ophthal. 113, 381-391 (1924)

HOCKWIN, O., KOCH, H.-R.: Fortschritte auf dem Gebiet der experimentellen Kataraktforschung, ihre Bedeutung für die praktische Augenheilkunde. In: KÜCHLE, E.: Almanach des Augenarztes. S.77-100. Lehmann: München (1976)

HOCKWIN, O., KLEIN, W., KORTE, F.: Veränderungen der Enzymaktivitäten der Linse des Auges durch Umweltchemikalien. Chemosphere 6, 261-266 (1972)

HOCKWIN, O., ISMAIL, R., BOURS, J., KORTE, I., KORTE, F.: Über die Entwicklung von Umweltchemikalien auf den Gehalt an Eiweißfraktionen in Rinderlinsen. Bull.Soc.Ophtal.France (in Druck)

ISMAIL, R., SALMINEN, L., KORTE, F.: Distribution of topically applied environmental chemicals in the rabbit eye. Chemosphere 12, 797-802 (1977)

ISMAIL, R., HOCKWIN, O., KORTE, F., KLEIN, W.: Environmental chemical permeation of bovine ocular lens capsule. Chemosphere 2, 145-150 (1976)

JAGOW, R.VON, KIESE, M., RENNER, G.: Oxidation of acetanilides to glycolanilides and oxanilic acids in rabbits. Biochem.Pharmacol. 15, 1899-1910 (1966)

JONES, C.M., CULVER, P.J., DRUMMEY, G.D., RYAN, A.E.: Modification of fat absorbtion in the digestive tract by the use of an emulsifiing agent. Ann.intern.Med. 29, 1-10 (1948)

JOSTEN, E.: Untersuchungen über den Einfluß von 2,3,5,6-Tetrachloranilin und 2-Methoxyäthanol auf die Augenlinse sowie von 2-Methoxyäthanol auf Zahnbildung und Kaliumhaushalt von Ratten. Diss. Bonn (1980)

KANEDA, A., NISHIMURA, K., SEZAKI, H., MURANISHI, S.: Mechanism of drug absorption from micellar solution. Effect of polysorbate 80 on the absorption of micelle-free drugs. Chem.pharm.Bull. 23, 523-528 (1975)

KAUFMANN, D.P., PLIMMER, J.R., KLINGENBIEL, U.: Microbial oxidation of 4-chloraniline. J.Agric.Food.Chem. 21, 127-132 (1973)

KELLER, H.W., KOCH, H.-R., OHRLOFF, C.: Experimental arabinose cataracts in young rats. Ophthal.Res. 9, 205-211 (1977)

KIESE, M.: The effect of certain substitute upon the N-oxidation of aniline in vivo. Arch.exp.Path.Pharmakol. 244, 387-404 (1963)

KIESE, M., ENGELHARD, G.: Unveröffentlichte Experimente. München, 1968. Zit.in: KIESE, M., LENK, W. (1971)

KIESE, M., LENK, W.: Metabolites of 4-chloraniline and chloracetanilides produced by rabbits and pigs. Biochem.Pharmacol. 20, 379-391 (1971)

KOCH, H.-R.: Klinische und experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Corticosteroiden auf die Augenlinse. Habilitationsschrift Bonn (1976)

KÖSTER, G.: Über die Wirkung der Substanzen Trichloranilin und Methoxyäthanol auf die Augenlinse von Ratten. Diss.Bonn (1981)

KORTE, I., ISMAIL, R.M., HOCKWIN, O., KLEIN, W.: Studies on the influences of some environmental chemicals and their metabolites on the content of free adenine nucleotides, intermediates of glycolysis and on the activities of certain encymes of bovine lenses in vitro. Chemosphere 2, 131-136 (1976)

KRANTZ, A.: zit.bei JONES (1948)

KUWABARA, T., COGAN, D.G.: Experimental aberrant lipogenesis. Arch. Path. 63, 496-501 (1957)

LAMBERT, B.W.: The effect of progestins and estrogenes on the permeability of the lens. Arch.Ophthal. (Chicago) 80, 230-234 (1968)

LANDSBERG, M.: Zur Ätiologie der Kataraktbildung. Zbl.prakt.Augenheilk. 12, 39-41 (1888)

LEHMANN, H.B., FLURY, F.: Toxicologie und Hygiene der technischen Lösungsmittel. S.204-206. Springer: Berlin (1938)

MAYZUZUMY, H., MOTOIKE, H., ADACHI, R., SKIRAI, Y.: Relation between the glucuronogenic activity of aromatic amines and the lability of their N-glucuronides. Seikagaku 32, 279-284 (1960)

McLAUGHLIN, R.S.: Chemical burns of the human cornea. Amer.J.Ophthal. 29, 1355-1362 (1946)

MINARD, R.D., RUSSEL, S., BOLLAG, M.: Chemical transformation of 4-chloraniline to a triazene in a bacterial culture medium. J.Agric.Food.Chem. 25, 841-844 (1977)

MITCHELL, R., ZAVON, M.D.: Methylcellosolve intoxication. Amer.ind. Hyg.Ass.J. 24, 36-41 (1963)

NITTER-HAUGE, S.: Poisoning with ethylenglycolmonomethylether. Acta med.scand. 188, 277-280 (1970)

NOMURA, A.: Studies on sulfhemoglobin formation by various drugs. Folia Pharm.Jap. 71, 351-365 (1975)

OSER, B.L., OSER, M.: Nutritional studies on rats on diets containing high levels of partial ester emulsifiers. J.Nutr. 61, 235-252 (1957)

PARRY, M.F., WALLACH, R.: Ethylenglycol poisoning. Amer.J.Med. 57, 143-150 (1974)

PARSONS, C.E., PARSONS, M.E.M.: Toxic encephalopathy and granulopenic anemia due to volatile solvents in industry: report of two cases. J.ind.Hyg.Toxicol. 20, 124-133 (1938)

PIETSCH, R.L., BOBO, C.B., FINKLEA, M.D., VALLOTON, W.W.: Lens opacities and organophosphatecholinesterase inhibiting agents. Amer.J.Ophthal. 73, 236-242 (1972)

PURTSCHER, E.: Über Krystallwolken im Linsenkern bei Cataracta coronaria. Graefes Arch.Ophthal. 142, 588-591 (1941)

QUIROGA, R., KLINTWORTH, G.K.: The pathogenesis of corneal edema induced by Tween 80. Amer.J.Path. 51, 977-999 (1967)

RENGSTORFF, R.: Cataracts induced in guinea-pigs by acetone, cyclohexanone and dimethylsulfoxid. Amer.J.Optom. 49, 308-319 (1972)

RÖMPP, H.: Chemielexikon. S.1126. Franckhsche Verlagsanstalt: Stuttgart (1966)

ROWE, V.K.: Derivates of glycol. In: PATTY, F.A.: Industrial hygiene and toxicology. S.1543-1547. Interscience Publishers, Wiley: London & New York (1963)

RUBIN, L.F., MATTIS, R.A.: Dimethylsulfoxid: lens changes in dogs during oral administration. Science 153, 83-84 (1966)

RUSSEL, S., BOLLAG, J.-M.: Formation and acetylation of 4-chloraniline by a streptomyces species. Acta Mikrobiol.Pol. 26, 59-64 (1977)

SALMINEN, L., HOCKWIN, O., ISMAIL, R.: Spezielle Probleme der Ophthalmokinetik. In: HOCKWIN, O., KOCH, H.-R.: Arzneimittelnebenwirkungen am Auge. S.1-12. Fischer: Stuttgart & New York (1977)

SAVIČ, S., HOCKWIN, O.: Biochemische Veränderungen am Kaninchenauge mit organischen Lösungsmitteln. Ophthalmologica 158, 359-363 (1969)

SAVIČ, S., BAASKE, H., HOCKWIN, O.: Biochemische Veränderungen am Kaninchenauge bei Vergiftung mit Trichloräthylen. Graefes Arch. Ophthal. 175, 1-6 (1968)

SCOTT, A.I.: Unpublished observations, 1965. Zit.in: SCOTT, A.I., ECCLESON, E. (1967)

SCOTT, A.I., ECCLESON, E.: Investigations of the general toxic and haematological effects of parachloraniline in several species. Excerpta med. 118, 195-204 (1967)

SCOTTI, P., TOMASINI, M.: Su di un caso di grave intosicazione acuta da parachloranilina con intensa methemoglobinemia e con transitorie alterazioni electrocardiografiche. Med.Lavoro 57, 662-666 (1966)

SEEF, L.B., HERNDLER, E.D., HOSTEN, A.O., SHALHOUB, R.J.: Ethylenglycol poisoning. Med.Annu. 39, 31-35 (1970)

SHELTAWY, M.J., LOSOWSKY, M.S.: Effect of non-ionic detergens on the absorption of oleic acid in the anaesthetised rat. Biomedicine 22, 468-472 (1975)

SIEGRIST, A.: Der grau Altersstar, seine Ursachen und seine nicht operative Behandlung. S.272. Urban & Schwarzenberg: Berlin & Wien (1928)

STARREK, E.: Über die Wirkung einiger Alkohole, Glykole und Ester. Diss.Würzburg (1938); zit.in: LEHMANN, H.B., FLURY, F. (1938)

STUTZ, P.M.: Untersuchung über die Wirkung von 3,4-Dichloranilin und Methoxyäthanol auf die Augenlinse. Diss.Bonn (1981)

SWAN, K.C., SALIT, P.W.: Lens opacities associated with experimental calcium deficiency. Amer.J.Ophthal. 24, 611-614 (1941)

SZIZA, M., PODHARGYAI, L.: Toxikologische Untersuchung einiger in der ungarischen Industrie zur Anwendung gelangter aromatischer Amidoverbindungen. Arch.Gewerbepath.Gewerbehyg. 15, 447-456 (1957)

THOMPSON, F.R., CORKE, C.T.: Persistence and effects of some chlorinated anilines on nitrification in soil. Canad.J.Microbiol. 7, 791-796 (1969)

TREON, J.F.: Physiological properties of selected non ionic surfactants. Soap Perfum Cosmet 38, 47-54 (1966)

UEHLEKE, H., BREYER, U., BRUDCZIES, B., TABARELLI, S., HELMER, K.H.: Der Einfluß von Methyrapon auf verschiedene Typen von mikrosomalen N-Oxidationen. Z.Physiol.Chem. 352, 403-411 (1971)

ULLMANN: Enzyklopädie der technischen Chemie. Bd.12, S.38. Urban & Schwarzenberg: München & Berlin (1960)

ULLMANN: Enzyklopädie der technischen Chemie. Bd.7, S.571. Verlag Chemie: Weinheim (1974)

WALLACH, D.P., KO, H., MASHALL, N.B.: Purification and properties of a tween hydrolyzing enzyme from rat adipose tissue. Biochim. biophys.Acta 59, 690-699 (1962)

WATANABE, T., ISHIHARA, N., IKEDA, M.: Toxicity and physiological monitoring for 1-3-diamino-2,4,6-trinitrobenzene and other nitro-amino derivates of benzene and chlorbenzene. Int.Arch.Occup.Environm.Hlth. 37, 157-168 (1976)

WEIL, C.S.: Tables for convenient calculation of medium effectiv dose (LD_{50} or ED_{50}) and instructions of their use. Biometrics 8, 249-263 (1952)

WERNER, H.W., MITCHELL, J.L., MILLER, J.W., OETTINGEN, W.F.VON: The acute toxicity of vapors of several monoalkyl ethers of ethylenglycol. J.ind.Hyg.Toxicol. 25, 157-163 (1943)

WERNER, H.W., MITCHELL, J.L., MILLER, L.W., OETTINGEN, W.F.VON: Effects of repeated exposures of dogs to monoalkyläthylenglycolether vapors. J.ind.Hyg.Toxicol. 25, 409-414 (1943)

WERNER, H.W., NAWROCKI, C.Z., MITCHELL, J.L., MILLER, J.W., OETTINGEN, W.F.VON: Effects of repeated exposures of rats to vapors of monoalkyläthylenglycolethers. J.ind.Hyg.Toxicol. 25, 374-379 (1943a)

WILEY, F.H., HUEPER, W.C., BERGEN, D.S., BLOOD, F.R.: The formation of oxalic acid from ethylenglycol and related solvents. J.ind. Hyg.Toxicol. 20, 267-272 (1938)

WRACKER, W.E.C.: Treatment of ethylenglycol poisoning. J.amer.med. Ass. 194, 1231-1233 (1965)

YOUNG, E.G., WOOLNER, L.B.: A case of fatal poisoning from 2-methoxyethanol. J.ind.Hyg.Toxicol. 28, 267-268 (1946)

Herrn Professor Dr. Otto Hockwin danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und seinen stets hilfreichen Rat.

Herrn Professor Dr. Hans-Reinhard Koch danke ich ganz besonders für seine stetige, unermüdliche Hilfsbereitschaft, seine tatkräftige Unterstützung bei der Planung und Ausführung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente sowie seine zahlreichen wertvollen Ratschläge.

Lebenslauf

Am 9.6.1954 wurde ich als Sohn des Studienassessors Hans-Werner Kirchhoff und dessen Ehefrau Charlotte, geborene Clormann in Köln geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Köln-Ostheim und anschließend das mathematisch-naturwissenschaftliche Humboldgymnasium in Köln-Mitte, wo ich am 15.5.1973 die Allgemeine Hochschulreife erwarb.

Im gleichen Jahr begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Universität Bonn und legte am 10.3.1976 die zahnärztliche Vorprüfung und am 15.1.1979 die zahnärztliche Prüfung mit Erfolg ab.

Am 22.2.1979 erfolgte die Bestallung als Zahnarzt.

Seit dem 2.5.1979 bin ich zur Weiterbildung in der kieferorthopädischen Abteilung der Zahnklinik Bonn als Assistenzzahnarzt tätig.